

Der Stoffwechsel der Salicylsäure und einiger ihrer Abkömmlinge

von

Horst-Dieter Reder

aus

Burgellern

1972

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Weinig

Der Stoffwechsel der Salicylsäure und einiger ihrer Abkömmlinge

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg



vorgelegt
von
Horst-Dieter Reder
aus
Burgellern

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan : Prof. Dr. Dr. H. Pauly
Referent : Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
Koreferent : Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung : 12.9.1972

1. Einleitung	
2. Die Bedeutung der Gewidmeten	
3. Die Gewidmeten in der Literatur	
4. Die Gewidmeten in der Kunst	
5. Die Gewidmeten in der Musik	
6. Die Gewidmeten in der Wissenschaft	
7. Die Gewidmeten in der Politik	
8. Die Gewidmeten in der Religion	
9. Die Gewidmeten in der Philosophie	
10. Die Gewidmeten in der Geschichte	
11. Die Gewidmeten in der Geographie	
12. Die Gewidmeten in der Biologie	
13. Die Gewidmeten in der Medizin	
14. Die Gewidmeten in der Psychologie	
15. Die Gewidmeten in der Soziologie	
16. Die Gewidmeten in der Anthropologie	
17. Die Gewidmeten in der Ethnologie	
18. Die Gewidmeten in der Linguistik	
19. Die Gewidmeten in der Literaturwissenschaft	
20. Die Gewidmeten in der Kunstwissenschaft	
21. Die Gewidmeten in der Musikwissenschaft	
22. Die Gewidmeten in der Wissenschaftsgeschichte	
23. Die Gewidmeten in der Politikgeschichte	
24. Die Gewidmeten in der Religionsgeschichte	
25. Die Gewidmeten in der Philosophiegeschichte	
26. Die Gewidmeten in der Geschichtswissenschaft	
27. Die Gewidmeten in der Geographiewissenschaft	
28. Die Gewidmeten in der Biowissenschaften	
29. Die Gewidmeten in der Medizinwissenschaft	
30. Die Gewidmeten in der Psychowissenschaften	
31. Die Gewidmeten in der Soziowissenschaften	
32. Die Gewidmeten in der Anthropologiewissenschaften	
33. Die Gewidmeten in der Ethnologiewissenschaften	
34. Die Gewidmeten in der Linguistikwissenschaft	
35. Die Gewidmeten in der Literaturwissenschaft	
36. Die Gewidmeten in der Kunstwissenschaft	
37. Die Gewidmeten in der Musikwissenschaft	
38. Die Gewidmeten in der Wissenschaftsgeschichte	
39. Die Gewidmeten in der Politikgeschichte	
40. Die Gewidmeten in der Religionsgeschichte	
41. Die Gewidmeten in der Philosophiegeschichte	
42. Die Gewidmeten in der Geschichtswissenschaft	
43. Die Gewidmeten in der Geographiewissenschaft	
44. Die Gewidmeten in der Biowissenschaften	
45. Die Gewidmeten in der Medizinwissenschaft	
46. Die Gewidmeten in der Psychowissenschaften	
47. Die Gewidmeten in der Soziowissenschaften	
48. Die Gewidmeten in der Anthropologiewissenschaften	
49. Die Gewidmeten in der Ethnologiewissenschaften	
50. Die Gewidmeten in der Linguistikwissenschaft	

Gewidmet

meinen lieben Eltern
und
Barbara Uebel
Norbert Kleinteich
Joachim Sauer
Sigi Schaltinat



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548610_0056

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>EINLEITUNG</u>	
1. <u>Allgemeines</u>	7
2. <u>Verunreinigung von Acetylsalicylsäure (Aspirin) durch Acetylsalicylsäureanhydrid</u>	12
II. <u>DAS SCHICKSAL DER SALICYLSÄURE, DER ACETYLSALICYL- SÄURE UND IHRER STOFFWECHSELPRODUKTE IM KÖRPER</u>	19
1. <u>Chemische Eigenschaften der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure</u>	19
2. <u>Absorption der Salicylsäure und Acetylsalicyl- säure</u>	19
A) <u>im Magen des Menschen</u>	19
B) <u>Vergleich Ratte - Mensch</u>	22
C) <u>im gesunden und kranken Magen</u>	23
D) <u>in Abhängigkeit von Dosisform, Plasma- und Gewebesalicylatspiegel</u>	25
E) <u>im Intestinum und Rektum</u>	29
3. <u>Bindung und Konzentration der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure im Blut</u>	33
A) <u>Untersuchungen über die Konzentration im menschlichen Plasma</u>	33
B) <u>Untersuchungen über die Bindung und Kon- zentration in Serumalbumin</u>	34
C) <u>Unterschiede der Bindungsfähigkeit bei verschiedenen Tieren</u>	39
D) <u>Acetylierung von Serumalbumin durch Acetyl- salicylsäure</u>	42

4. <u>Veränderung der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure im Körper des Menschen</u>	44
A) <u>Übersicht über die prozentuale Verteilung der Konjugations- und Oxidationsprodukte der Salicylsäure</u>	44
B) <u>Die Desacetylierung der Acetylsalicylsäure</u>	45
a) <u>beim Menschen</u>	45
b) <u>bei verschiedenen Tierarten</u>	51
5. <u>Die Bildung und Ausscheidung der verschiedenen Salicylsäuremetaboliten</u>	53
A) <u>Über die Konjugation der Salicylsäure mit Glycin und die Menge der ausgeschiedenen Salicylsäure</u>	53
a) <u>Einfluß des konjugierenden Enzymsystems auf die Salicyluratbildung</u>	53
b) <u>Wirkung von Glycinverabreichung auf die Salicyluratbildung</u>	56
c) <u>Ausscheidungsrate der Salicylursäure</u>	59
d) <u>Salicylursäure als ein Metabolit der Aminosäure L-Tryptophan</u>	62
B) <u>Bildung der Gentisinsäure und Menge ihrer Ausscheidung</u>	63
a) <u>Oxidation der Salicylsäure</u>	63
b) <u>Einfluß der Dosis auf die ausgeschiedene Menge an Gentisinsäure</u>	64
c) <u>Änderung der Ausscheidung an Gentisinsäure durch Alkalinisierung und Acidifizierung</u>	65

C) <u>Ausscheidung der Salicylsäure durch Konjugation mit Glukuronsäure</u>	68
a) Struktur und Biosynthese der Glukuronide	68
b) Konzentration der Salicylglukuronide im Plasma	71
c) Über die Menge der ausgeschiedenen Glukuronide im Urin	73
d) Renale Clearance der Salicylkonjugate	75
D) <u>Ausscheidung der unveränderten Salicylsäure</u>	78
a) Menge der Ausscheidung und ihre Abhängigkeit von Natriumbikarbonat	78
b) Renaler Mechanismus der Ausscheidung	80
c) Variation der Salicylatausscheidung beim Menschen	83
d) Im Tagesverlauf auftretender Rhythmus der Salicylatausscheidung	86
III. <u>UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN STOFFWECHSEL DES SALICYLAMIDS</u>	88
1. <u>Chemische Eigenschaften</u>	88
2. <u>Absorptionsverhalten des Salicylamids</u>	88
3. <u>Bindung und Konzentration des Salicylamids im Blut</u>	91
4. <u>Bildung und Ausscheidung der Salicylamidmetaboliten Salicylamidsulfat, Salicylamidglukuronid, und Gentisamid</u>	92
A) <u>Veränderung des Salicylamids beim erwachsenen Menschen und beim Kleinkind</u>	92

B) <u>Veränderung des Salicylamids im Körper verschiedener Tiere</u>	102
C) <u>Untersuchungen über den biochemischen Mechanismus der Sulfatkonjugation</u>	102
IV. <u>UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN STOFFWECHSEL DER METHYL-SALICYLSÄURE</u>	107
1. <u>Chemische Eigenschaften</u>	107
2. <u>Absorption der Methylsalicylsäure</u>	107
3. <u>Plasmakonzentration der Methylsalicylsäure</u>	108
A) <u>bei Tieren</u>	108
B) <u>beim Menschen</u>	109
4. <u>Umwandlung der Methylsalicylsäure im Körper</u>	111
A) <u>Untersuchungen über die Hydrolyse beim Menschen</u>	111
B) <u>Die Hydrolyseaktivität bei Tieren</u>	111
C) <u>Die Blockierung der Hydrolyse durch Diisopropylfluorophosphat (DFP)</u>	113
D) <u>Zusammenfassung</u>	113
V. <u>DISKUSSION</u>	115
VI. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	129
VII. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	130

I. EINLEITUNG

1. Allgemeines

Die Salicylate gehören zu den ältesten uns bekannten Heilmitteln. Sie nehmen aber auch heute noch - vor allem die synthetisierte Verbindung Acetylsalicylsäure oder Aspirin - aufgrund ihrer guten analgetischen, antipyretischen und antirheumatischen Wirkung einen bedeutenden Platz unter den modernen Arzneimitteln ein.

Salicylsäure findet man in freiem Zustand nur in sehr wenigen Pflanzen wie z.B. in den Blättern und Stengeln von Tulpen und Hyazinthen und in Kamillenblüten. Das Salicylradikal in Form des Salicylalkohols (Saligenin) kommt β -glykosidisch gebunden als Salicin in Blättern und Rinden z.B. der Birken, Ulmen und Weiden vor.

Salicylsäuremethylester (Methylsalicylsäure) wird wegen seines Vorkommens in Wintergrün auch Wintergrünöl genannt. Methylsalicylsäure findet sich auch als ätherisches Öl in der Birkenrinde.

Schon HIPPOKRATES (460-377 v.Chr.), Vater der ärztlichen Heilkunst, kannte die Wirkung salicinhaltiger Pflanzen. Der griechische Philosoph ARISTOTELES (384-322 v.Chr.) beschrieb den diuretischen Effekt der Krappwurzelrinde - die Diurese trat aber erst nach der Verabreichung des Rindenextraktes ein, was ARISTOTELES zu folgendem Schluß veranlaßte: die in der Rinde enthaltene Substanz würde den Patienten "zu einer massiven Diurese vorbereiten" (zit. nach SMITH, MELMON, ROWLAND, MORELLI, 1969). Der römische Arzt griechischer Abstammung GALENOS von Pergamon (123-199 n.Chr.) behandelte Fisteln, Geschwüre und Erysipele mit salicinhaltigen Heilrinden.

Doch nicht nur die abendländischen Begründer der ärztlichen Kunst, sondern auch die Medizinmänner anderer Völker und Kontinente kannten und benutzten die heilenden Rinden der Birken, Buchen und Pappeln. Die Indianer Nordamerikas verwendeten sogar schwach salicinhaltige Gräser wie verschiedene wilde Weizen- und Roggenarten und Klee. Eingeborene Stämme in Afrika behandelten Rheumatismus erfolgreich mit Blättern und Rinden der Weide.

Daß aber nicht nur die Heilwirkung salicylsäurehaltiger Pflanzen gefragt, sondern die giftige Wirkung z.B. der Methylsalicylsäure ebenso geschätzt war, geht aus einem Bericht von CASTAGNOU (1952) hervor : Die Negerinnen eines südrhodesischen Stammes begehen mit der Lupapi-Pflanze, die eine relativ große Menge Methylsalicylat enthält, Selbstmord, indem sie sich gepulverte Lupapi-Wurzeln in die Scheide einführen. In Vietnam sei Methylsalicylsäure als Suicidmittel bei den annamitischen Frauen, die einer erzwungenen Heirat aufgrund der dort herrschenden alten Bräuche ein Ende machen wollten, beliebt gewesen.

Der englische Pfarrer Edward STONE schrieb 1763 salicinhaltigen Pflanzen als erster fiebersenkende Eigenschaften zu. Auf der Suche nach einem Ersatz für die zu teure Rinde des Chinabaumes stieß er auf die Rinde der Trauerweide. Im bitteren Geschmack der Chinarinde gleichend, vermutete er ähnliche heilende Wirkung in der Weidenrinde. 50 Patienten mit Altersleiden und rheumatischen Beschwerden bekamen unter gleichen äußeren Bedingungen je 20 g gepulverte Weidenrinde in Wasser gelöst. Diese Einnahme wurde alle 4 Stunden wiederholt. Die Ergebnisse seien, so berichtete STONE, allesamt ausgezeichnet gewesen (zit. nach ROUECHE, 1957, SMITH, MJH. und SMITH, PK., 1966). Man darf wohl STONE als einen der ersten klinischen Pharmakologen bezeichnen.

Salicin ist 1830 von dem Franzosen LEROUX als Wirkstoff der Weidenrinde isoliert worden. 1838 wurde in Italien aus Salicin die therapeutisch wirksame Substanz hergestellt und als Salicylsäure identifiziert.

Obwohl Salicylsäure auch durch Oxidation von Salicylaldehyd und später durch Hydrolyse von Anthranilsäure hergestellt worden war, hatte man sie in größeren Mengen erst nach ihrer Synthese aus Phenol durch KOLBE (1874) zur Verfügung. KOLBE fand seine Salicylsäure zwar höchst wirksam, mußte dafür aber eine große Unverträglichkeit in Kauf nehmen. Mit einer Gruppe organischer Chemiker stellte er deshalb bei der pharmazeutischen Fabrik BAYER & COMPANIE das besser verträgliche Natriumsalicylat und Phenylsalicylat her. Ab 1876 wurden die Salicylate hauptsächlich zur Therapie des rheumatischen Fiebers verwendet.

Über 20 Jahre später entdeckte Felix HOFFMANN ein Derivat der Salicylsäure wieder, das schon 1853 von dem französischen Chemiker Charles Frédéric GERHARDT, einem früheren Assistenten von LIEBIG, hergestellt worden war : die Acetylsalicylsäure.

HOFFMANN suchte für seinen an rheumatischer Arthritis leidenden Vater ein Medikament, das auch nach längerer Einnahme nicht die Magenschleimhaut angreift, wie dies bei den bislang verwendeten Salicylatsen der Fall war. Nachdem er die Wirkung der Acetylsalicylsäure an sich selbst ausprobiert hatte, brachte er seine "Entdeckung" zum Direktor für pharmazeutische Forschung bei BAYER & COMPANIE, Heinrich DREISER. Direktor DREISER war in Europa durch die Synthese des Diacetylmorphins oder Heroins bekannt geworden. Er führte 1899 die ersten klinischen Erprobungen durch und "erfand" für das Acetylderivat der Salicylsäure die Bezeichnung ASPIRIN. Mit seinem Bericht "Aspirin" machte er die Mediziner seiner Zeit auf diese "Verbindung mit Zukunft" aufmerksam.

Durch HOFFMANN'S Acetylierung der Salicylsäure konnte Natriumsalicylat als antipyretisches, analgetisches und antirheumatisches Reagenz durch die verstärkte analgetische Wirkung des Aspirins ersetzt werden. Seit her gehören die Salicylate zu den am meisten verwendeten Arzneimitteln : allein in den USA wurden ungefähr 12000 Tonnen im Jahr 1962 und 13000 - 37000 Tonnen im Jahr 1969 an Acetylsalicylsäure verbraucht.

Obschon die Wirkung der Acetylsalicylsäure unbestritten ist, haben sich Forscher in aller Welt bisher vergebens bemüht, den Wirkungsmechanismus in biochemischer Hinsicht abzuklären.

COLLIER hatte Anfang der sechziger Jahre den entzündungshemmenden und fiebersenkenden Mechanismus zu erklären versucht. Er stellte die Hypothese auf, Acetylsalicylsäure verhindere eine Überproduktion von Abwehrstoffen im menschlichen Körper, die wiederum den Entzündungsprozeß verschärfen könnten. 1970 fanden der Londoner Pharmakologe VANE und Mitarb. und unabhängig davon COLLIER und Mitarb. eine Erklärung des entzündungshemmenden und fiebersenkenden Prozesses nach Aspireineinnahme : Beide Forschungsteams stießen auf eine Gruppe von körpereigenen Substanzen, von denen bislang 14 verschiedene Arten

z.B. im Gehirn, den Lungen, der Iris, in der Gebärmutter und in der Samenflüssigkeit nachgewiesen worden sind : die Prostaglandine.

Prostaglandine greifen nicht nur regulierend in den Fettstoffwechsel ein, sondern beeinflussen auch die Aktivität der glatten Muskulatur (PIPER, SAID und VANE, 1970) und spielen vielleicht sogar bei der Geburtensteuerung und im Schwangerschaftsprozess eine Rolle. Daß die hormonähnlichen Prostaglandine bei der Regulierung der Körpertemperatur und der Entstehung von Fieber maßgeblichen Anteil haben würden, vermutete man schon seit langem. COLLIER u. Mitarb. (1969/1970) konnten nachweisen, daß Prostaglandine an diesem Vorgang beteiligt sind. Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen zeigen, daß Aspirin die Ausschüttung bestimmter Prostaglandine im Körper der Erkrankten blockiert und so verhindert, daß sie den Entzündungsprozeß weiterhin in Gang halten. VANE und Mitarb. (1970) stellten eine Drosselung der Prostaglandinsynthese im Lungengewebe von Meerschweinchen nach Gabe von Acetylsalicylsäure fest. FERREIRA und MONCADA, Mitarbeiter der Forschergruppe von VANE, experimentierten mit einer Hundemilz; sie führten den Nachweis, daß der Ausstoß von Prostaglandinen bereits durch therapeutische Mengen von Aspirin gedrosselt wird.

QUICK (1966), WEISS, ALEDORT, KOCHWA (1968) und WEISS u. Mitarb. (1970) beschrieben eine neuere biologische Wirkung der Acetylsalicylsäure : die Hemmung der Plättchenaggregation, welche nicht nur theoretisches Interesse, sondern auch praktische Konsequenzen für die Thromboseprophylaxe hat.

Die Acetylsalicylsäure wurde zwar seit Jahrzehnten als relativ harmloses Arzneimittel angesehen und auch frei verkauft, jedoch machen seit einiger Zeit Forscher auf die verschiedenen Nebenwirkungen der Acetylsalicylsäure aufmerksam. GILMAN (1964) schließt eine nephrotoxische Wirkung nach längerer Asprineinnahme nicht aus.

Nach Verabreichung von Aspirin stellten HARVALD, CLAUSEN (1960) reichlich Urinsediment fest, viel mehr als z.B. nach Gabe von Acetophenetidin. SCOTT, DENMAN und DORLING (1963) fanden nach therapeutischen Dosen von Aspirin Zellen renalen Ursprungs im Urin.

Eigenartigerweise geht jedoch nach 2 bis 3 Tagen trotz weiterer Acetylsalicylsäuregaben die Zellzahl im Urin zurück. Die absolut nephrotoxische Wirkung von therapeutischen Dosen scheint aber noch nicht endgültig gesichert zu sein.

FRIEDLAENDER und FEINBERG (1947) machten zum ersten Mal auf Aspirinallergien aufmerksam, die sich vornehmlich in asthmatischen Anfällen äußern sollen. SAMTER und BEERS (1968) berichten sogar von anaphylaktischen Schockzuständen infolge von Aspirinintoleranz. Den Zusammenhang zwischen gastrointestinalen Blutungen und Verabreichung verschiedener Aspirinpräparate untersuchten WOOD, HARVEY-SMITH und DIXON (1962). Dabei verursachen sowohl Aloxiprin (Polyoxo-Aluminium-Aspirin) als auch Acetylsalicylsäureanhydrid Blutungen im Magen-Darm-Trakt; ein Aspirinpräparat mit Natriumbikarbonat (sog. "aufschäumendes" Aspirin) zeigte ein signifikant niedrigeres Blutungsverhalten.

Als Ursache diskutierte man längere Zeit eine direkte Schädigung der Magen-Darm-Wand durch Acetylsalicylsäure. Diese Behauptung wird heute nicht mehr aufrechterhalten - vielmehr scheint es, daß die tatsächliche Ursache der Blutung auf einer lokal verminderten Koagulabilität und einer Plättchenaggregationshemmung beruhen. Geringe Mikrotraumen der Magenwand führen damit auch leichter zur Blutung. Die Aggregationshemmung der Plättchen wird durch die Acetylierung dieser Blutplättchen durch Aspirin verursacht. AL-MONDHIRY, MARCUS und SPAET (1970) bestätigten diese Acetylierungshypothese durch Versuche mit ^{14}C (an der Carboxyl- oder Acetylgruppe markierter) Acetylsalicylsäure. Die Acetylierung von Plättchen ist damit wahrscheinlich der Hauptgrund der gastrointestinalen Nebenwirkungen von Aspirin.

Ohne diese Nebenwirkungen auf die Magen- und Darmmukosa aufzuweisen, kann eine den Salicylaten verwandte, chemisch jedoch anders reagierende Substanz eingenommen werden: das Salicylamid. Das Amid der Salicylsäure wird, trotz seiner ausgezeichneten Verträglichkeit und sehr geringen Toxizität, wegen seiner milden analgetischen und ungenügenden antipyretischen Wirkung hauptsächlich zur Therapie des Rheuma verwendet, meistens aber in Kombination mit andern Salicylaten.

2. Verunreinigung des Aspirins mit Acetylsalicylsäureanhydrid

Den Forschergruppen WEINER und Mitarb. (1963), GIRALDO und Mitarb. (1969) und GIRARD und Mitarb. (1969) fiel eine andere Nebenwirkung der Acetylsalicylsäure auf, die sich u.a. in asthmatischen Anfällen und urtikariellen Hautreaktionen zeigten.

Eine eventuelle Sensibilisierung des Menschen durch Acetylsalicylsäure könnte für die oben genannten Forscher als mögliche Ursache dieser Nebenerscheinungen in Frage kommen. In zahlreichen Experimenten wiesen diese Autoren bei einer Anzahl von Patienten Antikörper mit Aspirinspezifität nach.

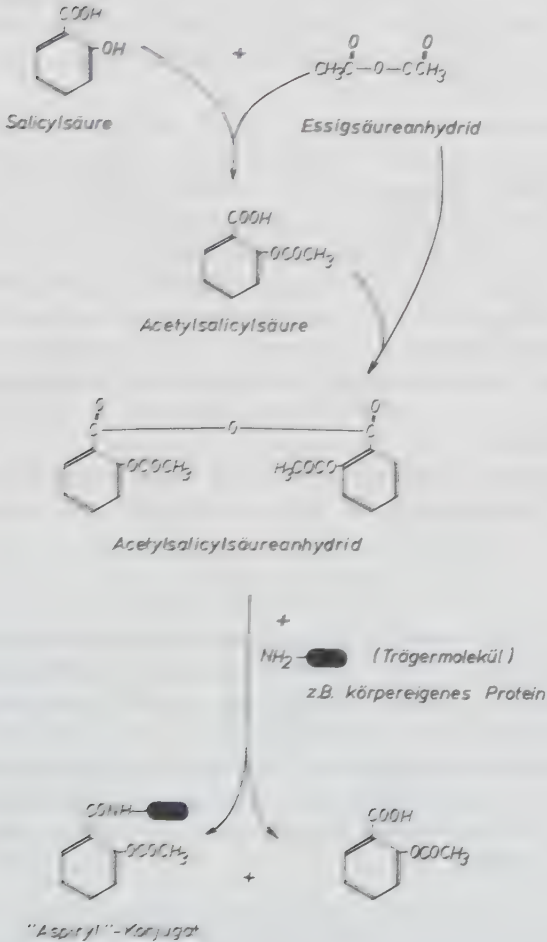
Normalerweise reagiert die Carboxylgruppe der Acetylsalicylsäure nicht so ohne weiteres mit Aminogruppen von Proteinen. SCHWARZ und AMIDON (1966) hielten die Bildung von Aspirindeterminanten aufgrund theoretisch-chemischer Erwägungen für möglich und konnten die Bildung von Aspirylamide und Salicyloylamine aus Acetylsalicylsäure mit Stoffen, die verschiedene Aminogruppen besitzen, in einer Größenordnung von 0,1 bis 0,01 % nachweisen.

Die Frage der Bildung von Aspirindeterminanten gewann eine ganz andere Bedeutung, als 1968 VOGEL den Berner Immunologen DE WECK in einer persönlichen Mitteilung darauf hinwies, daß Acetylsalicylsäureanhydrid ein häufiger Kontaminant von Acetylsalicylsäurepräparaten ist (zit. nach DE WECK, 1971a). Acetylsalicylsäureanhydrid stellt das Kondensationsprodukt von zwei Aspirinmolekülen dar und muß, wie andere Säureanhydride, als sehr reaktiv mit Aminogruppen und Proteinen angenommen werden. DE WECK und Mitarb. (1971a) konnten nachweisen, daß Acetylsalicylsäureanhydrid tatsächlich mit zahlreichen Proteinen und Peptiden reagiert und stabile Aspirylkonjugate bildet. Sie vermuten hier die Ursache der allergischen Manifestationen der Acetylsalicylsäure.

Die Aspirylierung verläuft nach dem folgenden Reaktionsschema:

ASPIRYLIERUNG VON KÖRPERPROTEINEN

(nach DE WECK, 1971)



Injiziert man Meerschweinchen und Kaninchen Acetylsalicylsäureanhydrid in wässriger Suspension oder organischer Lösung, so zeigen sie eine Kontaktüberempfindlichkeit und bilden offenbar Anti-Aspirin-Antikörper. Durch Vergleiche in vitro und in vivo konnte DE WECK (1971a) die Stärke dieses Sensibilisierungsmittels bestimmen : Acetylsalicylsäureanhydrid liegt als starkes Immunogen zwischen Penicillin und Dinitrochlorbenzol, dem gebräuchlichsten experimentellen Sensibilisierungsmittel.

Noch auffallender war für DE WECK (1971b), daß verschiedene Acetylsalicylsäurepräparate unter standardisierten Immunisierungsbedingungen Meerschweinchen sehr unterschiedlich sensibilisierten. Da mehrmals umkristallisierte Acetylsalicylsäurepräparate immunologisch unwirksam sind und während der Acetylsalicylsäure-Synthese Acetylsalicylsäureanhydrid entstehen kann, wurde es wahrscheinlich, daß die Sensibilisierung von Meerschweinchen durch käufliche Aspirinmuster, die mit Acetylsalicylsäureanhydrid verunreinigt sind, verursacht wird. Mithilfe dünnenschichtchromatographischer Analyse bestimmte DE WECK (1971b) den Anteil an Acetylsalicylsäureanhydrid bei den verwendeten Aspirinpräparaten mit 0,01 bis 0,05 %.

Die Menge des in den Aspirinmustern enthaltenen Anhydrids und die immunologische Wirkung der einzelnen Aspirinpräparate laufen ungefähr parallel. Dies geht auch aus Tabelle 1 hervor :

(Tabelle 1 nächste Seite)

Die Tatsache, daß verschiedene Aspirinpräparate das hochimmunogene Acetylsalicylsäureanhydrid in unterschiedlicher Menge enthalten, beweist noch nicht, daß diese Anhydridmengen durch therapeutische Mengen an Acetylsalicylsäure aufgenommen werden. Man kann damit rechnen, daß mit 500 mg Acetylsalicylsäure ungefähr 50-500 g Acetylsalicylsäureanhydrid eingenommen werden - vorausgesetzt, der gesamte Anhydridgehalt des Acetylsalicylsäurerohstoffs geht in die galenische Form über (DE WECK, 1971a).

Dennoch haben verschiedene Autoren, u.a. GIRALDO u. Mitarb. (1969) und GIRARD u. Mitarb. (1969), Antiaspirylkörper beim Menschen festgestellt. Diese Antikörper gleichen in ihrer Spezifität jenen, welche

Tabelle 1 : Auslösung von Kontaktreaktionen durch verschiedene Acetylsalicylsäureanhydrid-(ASAN)-Konzentrationen und durch Extrakte von Acetylsalicylsäure-(ASS)-Präp. bei mit Acetylsalicylsäureanhydrid hyperimmunisierten Meerschweinchen
(nach DE WECK, 1971)

Kontaktreaktion ausgelöst durch	+Tiere/getestete T.	Score*
ASAN 5 %	7 / 7	2,43
ASAN 1 %	7 / 7	2,00
ASAN 0,1 %	7 / 7	0,62
ASAN 0,05 %	5 / 7	0,43
ASAN 0,01 %	0 / 7	0
ASS BRD A ("reinst")	0 / 7	0
ASS BRD B	6 / 7	0,71
ASS DDR	6 / 7	0,78
ASS Polen	5 / 7	0,50
ASS England	1 / 7	0,07

* Meerschweinchen immunisiert durch 10 mg Acetylsalicylsäureanhydrid in vollständigem "Freund'schem Adjuvans"
Score: Durchschnitt aller Kontaktreaktionen nach Skala 0,5
1, 2, 3 (Details: 20)

durch Acetylsalicylsäureanhydrid experimentell **erzeugt** werden können. DE WECK (1971a) versuchte mithilfe von Hauttesten mit Aspirylpolylysin und serologischen Untersuchungen an Patienten, die Intoleranzerscheinungen gegenüber Aspirin zeigten, Anti-Aspirylkörper nachzuweisen. Die Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Hautreaktionen.

(Tabelle 2 nächste Seite)

In drei Fällen sah man eindeutige allergische Symptome nach wiederholter Acetylsalicylsäure-Verabreichung. Deutliche Hautsensibilisierung gegen Aspiryldeterminanten und ein positiver Hauttest mit Aspiryl-Polylysin wurden beobachtet; außerdem konnten in einigen Seren Antikörper mit Aspirylspezifität nachgewiesen werden. Unklar ist jedoch noch, in welchem Maße bei Patienten, die Aspirin einnehmen, solche Antikörper zu erwarten sind und ob solche Antikörper die Ursachen aller als allergisch angesehenen Nebenwirkungen der Acetylsalicylsäure sind.

Erstaunlich ist z.B., daß bei den Versuchen von WOOD und Mitarb. (1962), der seinen Patienten u.a. auch reines Aspirinanhydrid verabreichte, um die gastrointestinale Blutungsneigung nach Einnahme von verschiedenen Aspirinpräparaten zu untersuchen, keiner seiner zweiundzwanzig Patienten als Nebenerscheinung allergische Manifestationen irgendwelcher Art zeigte. Obwohl YURCHAK, WICHER und ARBESMAN (1970) die Bildung von Antiaspirylantikörper nach Aspirineinnahme anzweifeln, scheint es heute festzustehen, daß eine gewisse Zahl von Patienten solche Antiaspirylantikörper besitzen. Da verschiedene Aspirinmuster unterschiedliche Mengen an Acetylsalicylsäureanhydrid enthalten und die sehr "reinen" Präparate die Fähigkeit Antiaspirylantikörper zu bilden, nicht aufweisen, läßt vermuten, daß solche Patienten, die Antiaspirylantikörper entwickeln, eher durch die Anhydrid-Verunreinigung sensibilisiert worden sind als durch metabolische Umwandlungsprodukte der Acetylsalicylsäure in vivo.

Ob Acetylsalicylsäureanhydrid auch die Ursache chronischer Nierenschädigungen durch Analgetika-Abusus ist, wird gegenwärtig noch

Tabelle 2 : Urtikarielle Hautreaktion nach intradermaler Injektion von Aspiryl-Polylysin
beim Menschen ; $\emptyset$ = negativ ; n.g. = nicht getestet ; (nach DE WECK, 1971a)

Versuchspersonen	Anzahl	Acetyl-salicylsäure (Scratch-Test)	Aspiryl-Polylysin-Verdünnung				
			1:1	1:2	1:10	1:100	1:1000
Patient A : wiederholtes Quincke-Ödem nach Einnahme von Acetylsalicylsäure	1	$\emptyset$	+++	++	+	(+)	$\emptyset$
Patient B : wiederholte generalisierte Urtikaria nach Einnahme v. Acetylsalicyls.	1	$\emptyset$	n.g.	n.g.	+++	++	(+)
Patient C : wiederholte generalisierte Urtikaria nach Acetylsalicyls.-Einnahme	1	$\emptyset$	n.g.	n.g.	++	+	(+)
5 Patienten mit general. Urtikaria nach Analgetika, ohne sichere Korrelation mit Acetylsalicylsäure-Einnahme	1 Pat. 4 Pat.	$\emptyset$ $\emptyset$	++ $\emptyset$	++ $\emptyset$	(+) $\emptyset$	$\emptyset$ $\emptyset$	$\emptyset$ $\emptyset$
10 normale Versuchspersonen, die Acetylsalicylsäure symptomlos vertragen	2 Pat. 8 Pat.	$\emptyset$ $\emptyset$	(+) $\emptyset$	(+) $\emptyset$	$\emptyset$ $\emptyset$	$\emptyset$ $\emptyset$	$\emptyset$ $\emptyset$

untersucht.

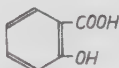
Noch kann nicht mit Sicherheit bestimmt werden, in welchem Maße das Verunreinigungsprodukt Acetylsalicylsäureanhydrid für die Unverträglichkeitserscheinungen nach Einnahme von Aspirin verantwortlich ist. Deshalb fordert DE WECK , daß dieser hochimmune und potentiell schädigende Wirkstoff nicht in Aspirinpräparaten vorhanden sein darf.

II. DAS SCHICKSAL DER SALICYLSÄURE, DER ACETYLSALICYLSÄURE (ASPIRIN) UND IHRER STOFFWECHSELPRODUKTE

1. Chemische Eigenschaften der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure

Salicylsäure

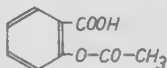
Formel:



Die Salicylsäure kommt in weißen, nadelfeinen Kristallen oder als flockig weiß-kristallines Pulver vor. Sie hat einen süßlichen bis säuerlichen Geschmack und ist geruchlos. Ein Teil Salicylsäure löst sich in 460 Teilen Wasser, in organischen Lösungsmitteln ist sie viel besser löslich. Mit einem pK-Wert der Carboxylgruppe von 3,0 ist sie eine ziemlich starke Säure und bildet z.B. mit Kupfer-, Eisen- und Aluminiumionen Chelate.

Acetylsalicylsäure

Formel:



Acetylsalicylsäure (Aspirin) bildet weiße Kristalle, ist an trockener Luft stabil und hydrolysiert in feuchter Luft allmählich zu Salicyl- und Essigsäure, weshalb sie auch leicht nach Essigsäure riecht. In Wasser ist sie leichter löslich als die Salicylsäure und viel leichter löslich als in organischen Lösungsmitteln. In Lösung zerfällt sie je nach pH-Wert: bei pH 2,5 ist sie am wenigsten für Hydrolyse zugänglich und für Tage stabil. In basischer Lösung zerfällt sie sofort. Verschiedene Salze beschleunigen die Hydrolyse. Acetylsalicylsäure ist z.B. stabil in Alkohol und Glykol. Aluminium- und Calciumsalze gibt es ebenfalls. Alkalische Salze zum pharmazeutischen Gebrauch sind schwierig herzustellen, aber Tabletten, die einen Zusatz an Puffer enthalten und in Wasser Salze bilden, sind verfügbar.

2. Absorption der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure

A) Im Magen des Menschen

Salicylsäure: lange Zeit war der Magen als Ort der Absorption kein

Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. So ist der gastrischen Absorption von Arzneimitteln (außer vielleicht Alkohol) wenig Beachtung geschenkt worden. SCHANKER und Mitarb. haben 1957 gezeigt, daß die undissoziierte Form des Arzneimittels im Rattenmagen sofort absorbiert wird. HOGBEN, SCHANKER, TOCCO, BRODIE und Mitarb. (1957) dehnten die Studie auf den Menschen aus und zeigten, daß der menschliche Magen saure Arzneimittel und sehr schwach alkalische absorbieren kann. Diese Resultate unterstützen die These, die HOGBEN und Mitarb. aufstellten : daß die menschliche Magenmukosa im wesentlichen als eine Lipoidbarriere betrachtet werden müsse, die selektiv die passive Diffusion der nichtionisierten lipoidlöslichen Moleküle gestattet. Das bedeutet, daß der pH-Wert für die Absorption mitentscheidend ist, da von ihm abhängt, ob der Stoff nun in ionisierter oder undissoziierter Form vorliegt (Bei Hunden mit Magen fisteln der Pylorusgegend oder des Fundusfeldes können Salicylate - als Acetylsalicylsäure oder Salicylsäure - bei einem pH-Wert von 1 innerhalb von 2 Stunden zu 80-90% absorbiert sein, bei einem pH-Wert von 7 aber zu weniger als 30%).

Acetylsalicylsäure : In vergleichbaren Experimenten bei Menschen, Hunden und Ratten ist die gastrische Absorption der Acetylsalicylsäure etwas geringer als jene der Salicylate, was möglicherweise auf die größere Löslichkeit in Wasser hinweist (BRODIE, 1964, zit. nach SIURALA u. Mitarb., 1969)

Unterschiedliches Absorptionsverhalten bei verschiedenen Substanzen u.a. Salicylsäure, Acetylsalicylsäure (Aspirin) und Chinin, bzw. unterschiedliches Absorptionsvermögen des Magens bei Substanzen mit spezifischen chemischen Eigenschaften zeigt die Tabelle 3.

An verschiedenen Tagen erhielt jede Versuchsperson 220 ml einer Lösung folgender Zusammensetzung : in 220 ml einer 0,1 Mol HCl waren 100µg Natriumsalicylat pro ml, je 200µg Aspirin, Chininchlorid und Phenolrot pro ml gelöst. Die Absorption wurde im Abstand von 10, 20, 30 und 40 Minuten bestimmt.

(Tabelle 3 siehe nächste Seite)

Tabelle 3: Gastrische Absorption von Arzneimitteln die in
0,1 Mol HCl gelöst sind, beim Menschen
(nach HOGBEN u. Mitarb., 1957)

Ver- suchs- person	Gastrische Absorptionsraten in % der der verabreicht. Dosis												Volumen d. Mageninhalts	
	min.				min.				min.				Anfang	Endv.
	1o	2o	3o	4o	1o	2o	3o	4o	1o	2o	3o	4o	ml	ml
1	Salicylsäure pK = 3,0				Aspirin pK = 3,5				Chinin pK = 8,4				228	63
	64	73	89	98	45	60	70	81	0	0	0	0		
2	27	50	69	75	9	19	35	50	0	0	0	0	222	75
3	36	51	72	85	18	29	40	60	0	0	0	0	243	69

In der Tabelle 3 wird die gastrische Absorptionsrate von verschiedenen Substanzen in 0,1 Mol HCl dargestellt und dabei festgestellt, daß nach 40 min. für die Salicylsäure, eine starke Säure, die durchschnittliche Absorptionsrate 86 % und für die Acetylsalicylsäure 69 % beträgt. Keine Absorption war z.B. für die starke Base Chinin festzustellen. Während des von HOGBEN und Mitarb. durchgeführten Versuchs war ein Substanzverlust der Arzneimittellösung vom Magen in den Darm zu bemerken. Vom mittleren Anfangsvolumen von 233 ± 16 ml im Magen verschwanden 126 ml in den Darm und 30 ml wurden für die Analyse verwendet. Da man normalerweise Arzneimittel mit Wasser einnimmt, bestimmten HOGBEN u. Mitarb. die Absorptionsraten für einige Substanzen (u.a. Salicylsäure u. Acetylsalicylsäure) in 100 ml destil-

lierten Wasser. Die Beobachtungsperiode über 20 Min. brachte folgende Ergebnisse : die verwendeten sauren Substanzen wie Salicylsäure und Acetylsalicylsäure wurden gleich schnell vom Magen des Menschen absorbiert. Da die geringfügige Absorption der Base Chinin in einem Bereich gemessen wurde, der dem Grenzbereich der Analyse nahekam, kann man sie vernachlässigen. Alkohol wurde bei diesem Versuch mit-
einbezogen : die Absorptionsrate betrug nach 20 Min. 40 % und verlief langsamer als jene der Salicylsäure (61%), aber schneller als die der Acetylsalicylsäure (36%). Die spontane, basale Magensekretion ergab nach 20 Min. einen pH-Wert von $1,8 \pm 0,4$.

Die Zahlen der Absorptionsraten in destilliertem Wasser waren im wesentlichen die gleichen wie die in 0,1 Mol HCl, da die normale, basale Magensekretion den Mageninhalt bei diesem Experiment deutlich sauer macht. Nach HOGBEN und Mitarb. sind die Ergebnisse ihrer Experimente wie folgt :

Der menschliche Magen ist ein bedeutsamer Ort der Absorption. Praktisch sind es drei Faktoren, die den relativen Betrag der Absorption von Arzneimitteln nach oraler Verabreichung bestimmen. Der erste und bedeutendste Faktor ist die Fähigkeit der Substanz, sich im Mageninhalt aufzulösen (z.B. wird die schwachlösliche Acetylsalicylsäure noch relativ schnell vom Magen aufgenommen, während Dicumarol bereits so schwer löslich ist, daß keine nennenswerte Absorption vom Magen erwartet werden kann.). Den zweiten Faktor stellt die Zeit dar, in der die Substanz im Magen verweilt; sie bestimmt das Ausmaß der gastrischen Absorption. Als dritter Faktor spielt das Volumen des Mageninhalts eine Rolle (allgemein gilt: die Konzentration irgendeiner Arzneimitteldosis ist umgekehrt proportional dem Volumen des Mageninhalts).

B) Vergleich Ratte - Mensch

SCHANKER und Mitarb. (1957) stellten fest, daß der menschliche Magen in seinem Absorptionsverhalten dem der Ratte ähnlich ist und daß der absolute Betrag der Absorption proportional der Konzentration und umgekehrt proportional dem Mageninhalt ist.

Die ähnlichen Absorptionseigenschaften des Rattenmagens bei einer

Vergleichsmethode, die die gastrische Absorption unabhängig von den Parametern Zeit und Magenvolumen ausdrückt, ist aus der untenstehenden Tabelle 4 ersichtlich.

Die Gleichung für die gastrische Clearance lautet:

$$\text{Clearance} = \frac{\text{Volumen}}{\text{Zeit}} \cdot \ln \left(\frac{\text{Anfangskonzentration}}{\text{Endkonzentration}} \right)$$

Die Ähnlichkeit der gastrischen Clearance von Substanzen im Menschen- und Rattenmagen zeigt die folgende Tabelle:

Tabelle 4 : Vergleich gastrischer Absorption bei Mensch u. Ratte
(nach HOGBEN, SCHANKER, 1957)

Substanz	Clearance (ml gastr. Inhalts, entleert/Std/m ²)	
	Mensch	Ratte
Salicylsäure	283	174
Thiopental	152	108
Aspirin	138	89
Äthanol	101	52
Secobarbital	47	53

C) Im gesunden und kranken Magen

SIURALA, MUSTALA und JUSSILA (1969) untersuchten die Absorption von Acetylsalicylsäure der normalen und atrophischen Mucosa des Magens. Sie beriefen sich auf BRODIE (1964), der Molekulargewicht und Fettlöslichkeit der aufzunehmenden Substanz für wichtige Faktoren, die den Absorptionsvorgang beeinflussen, hält. Die sauren bzw. alkalischen Eigenschaften sind für ihre Fettlöslichkeit von zusätzlicher Bedeutung. SIURALA und Mitarb. prüften die gastrische Absorption von Acetylsalicylsäure mithilfe des Blutspiegels der Salicylate. Der Salicylat Spiegel wurde mit der Methode nach TRINDER (1954) bestimmt, die sich unmittelbar auf die Salicylatmenge bezog und nicht auf Acetylsalicylsäure, da diese, wie WOODBURY 1965 zeigen konnte, im Körper hydrolysiert wird. Das Ergebnis zeigt in der fol-

genden Tabelle 5 und anschließenden Abbildung 1, daß die Absorptionsrate der Versuchsperson mit einer Metaplasie der Mukosa gegenüber der normaler Versuchspersonen erniedrigt ist.

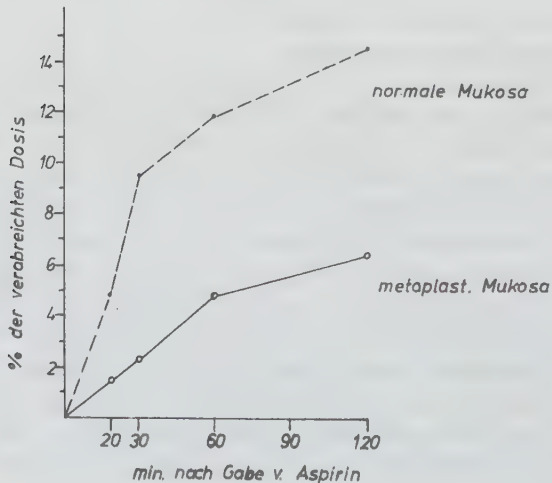
Tabelle 5: Plasmasalicylat-Werte bei Patienten mit normaler und metaplastischer Mukosa (nach SIURALA u. Mitarb., 1969)

min	Plasmawerte in % d. verabreicht. Salicylat-Dos.		min	Plasmawerte in % d. verabreicht. Salicylat-Dos.	
	normal	Metaplasie		normal	Metaplasie
20	4,97 ± 2,05*	1,40 ± 0,23	60	11,83 ± 1,70§	4,94 ± 1,81
30	9,68 ± 1,57§	2,14 ± 1,37	120	14,68 ± 4,33*	6,45 ± 2,40

* Unterschied: signifikant § Unterschied: sehr signifikant

Die Differenz der Absorption bei 20 und 120 Min. war bedeutend (signifikant! $p=0,01$), bei 30 und 60 Min. sehr groß (sehr signifikant! $p=0,001$).

Abb. 1: Absorptionsraten (Plasma-Werte in % d. verabreichten Dosis) bei Patienten mit normaler und metaplastischer Magenschleimhaut; Werte nach Tabelle 5.

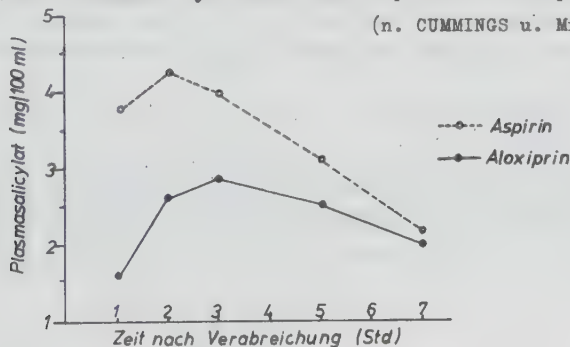


Die Absorptionskurven zeigen u.a. auch Unterschiede im Absorptionsverhalten, die nicht durch die verschiedene Azidität des Mageninhalts zustande kommen. Differenzen in der Verteilung, im Metabolismus und der Ausscheidung der Acetylsalicylsäure, wie sie EVANS und CLARK (1961), LEVY und HOLLISTER (1964) annahmen, kamen für SIURALA u. Mitarb. nicht in Frage, da nach intraduodenaler Gabe von Acetylsalicylsäure an Patienten Kurven derselben Form sowohl bei Patienten mit normaler Mukosa als auch bei Patienten mit Metaplasie vorkamen. Die Ergebnisse von SIURALA demonstrieren die Möglichkeit der getrennten Messung der Absorption des Magens und des Dünndarms. Im Falle von sauren und fettlöslichen Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht sind die deutlichen Unterschiede, durch das gastrische Absorptionsverhalten festgestellt, auf den veränderten anatomischen Status der Mukosa zurückzuführen.

D) In Abhängigkeit von Dosisform, Plasma- und Gewebesalicylatspiegel

CUMMINGS und MARTIN (1962, 1964) bestimmten Plasmasalicylatkonzentration und Ausscheidungsrate von Acetylsalicylsäure und Aloxiprin (Aluminiumoxid und Aspirin) beim Menschen. Es zeigte sich, daß die maximale Ausscheidungsrate bei Aloxiprin gegenüber Acetylsalicylsäure ähnlich, aber verzögert ist, was man einem langsameren Absorptionsvermögen des Magens zuschreiben könnte (Aloxiprin löst sich langsamer als Acetylsalicylsäure in Pufferlösung von pH 2 - 8). Außerdem fanden sich die Maxima der Plasmasalicylatkonzentration in einer Breite von 3,7 - 6,8 mg/100ml (Mittel 5,1), während bei Aloxiprin nur 2,3 - 3,9 mg/100ml (Mittel 3,0) vorkam.

Abb. 2 : Mittlere Plasmasalicylatkonz. nach Aspirin-u. Aloxiprin-Gabe
(n. CUMMINGS u. Mitarb. 1962)



Es scheint nach der Abbildung so zu sein, daß nicht alle Acetylsalicylsäure des Aloxipirins absorbiert wurde. Hier zeigt sich die Problematik, daß die relative Geschwindigkeit der Absorption der Acetylsalicylsäure nicht genau durch einen Vergleich der beiden in Beziehung stehenden Plasmasalicylatkonzentrationen gemessen werden kann. Jeder Unterschied der relativen Absorptionsrate wird überbewertet, in soweit, daß die schneller absorbierten Anteile schneller absorbiert erscheinen, und die weniger schnell absorbierten langsamer als es tatsächlich der Fall ist. CUMMINGS und MARTIN meinen, daß die Substanzkonzentration im Blut nicht nur eine Funktion ihrer Bindung an das Blut, sondern auch ihrer Entfernung aus dem Blut ist, d.h.

$$(\text{Betrag im Blut}) = (\text{Betrag, der in das Blut eintritt}) - (\text{Betrag, der austritt})$$

Da der Betrag der Blutkonzentrationsänderung die Messung der Absorptionsrate einer Substanz nicht exakt ermöglicht, muß der Entfernungsbetrag der Substanz aus dem Blut entweder direkt proportional zur Blutkonzentration sein, oder einen zu vernachlässigenden Wert aufweisen. Dies ist in den Untersuchungen von CUMMINGS und Mitarb. nicht der Fall. Diese Autoren meinen, daß andere Faktoren, wie z.B. Proteinbindung der Salicylate, eine Rolle spielen.

CUMMINGS und Mitarb. weisen, wie oben schon aufgeführt, darauf hin, daß die Serumsalicylatspiegel unverhältnismäßig hoch (und die Gewebesalicylatspiegel unverhältnismäßig niedrig) sind, wenn die Substanz sehr schnell absorbiert wird und deshalb "die relative Geschwindigkeit der Absorption von Acetylsalicylsäure nicht genau durch Vergleich der jeweiligen Plasmakonzentration bestimmt werden kann."

Nach NELSON und LEVY (1963) widerspricht das den allgemein anerkannten Prinzipien, die die Transferrate von Substanzen aus dem im Blut zirkulierenden Anteil in die Gewebe regeln und könnte weiterhin folgendes implizieren: es bestünde ein aktiver und sättigender Prozeß, der für den Durchtritt der Substanz durch die Membranen der

Blutgefäße von Belang ist. Vielmehr sei der Transfer von Salicylaten aus dem Blut in die Gewebe im allgemeinen eine Funktion des Konzentrationsgradienten, welcher im wesentlichen mit der Plasmakonzentration während der Absorptionsphase gleichzusetzen ist. Dieser Konzentrationsgradient wird modifiziert durch die Plasmaproteinbindungsfähigkeit, aber nicht, wie es CUMMINGS und MARTIN vorschlugen, weil ein großer Teil der Salicylate bei höheren Konzentrationen in freier, diffundierbarer Form vorliegt (DAVISON, SMITH, 1961).

DAVISON und Mitarb. (1961) bestimmten den Plasma- und Gehirnsalicylatspiegel nach oraler Gabe von Aspirin und Natriumsalicylat bei Ratten. Beide Substanzen wurden einmal in schnell absorbierbarer, dann in langsam absorbierbarer Form gegeben. Das Verhältnis von Plasma- zu Gehirnsalicylatspiegel war niedriger in der schnell absorbierbaren Form als nach Verabreichung einer langsamer absorbierenden Form. Das weist auf einen Plasmaproteinbindungseffekt hin. Die experimentellen Arbeiten von NELSON und LEVY über Beziehungen zwischen Plasmasalicylatkonzentration und Urinsalicylatexkretionsrate zeigen in ihren Resultaten, daß Plasmasalicylat- und Urinausscheidungsdaten ein befriedigender Indikator der relativen Absorptionsrate oral verabreichter Salicylate sind.

Betrachtet man die obigen Ergebnisse, so sind diese hauptsächlich gültig im Bereich der isolierten Systeme (in vitro- und in vivo-Messungen). Beschäftigt man sich mit dem Menschen, so fallen noch andere Faktoren mit ins Gewicht. Bei oraler Salicylatverabreichung hängt die Absorptionsrate in einem bemerkenswerten Ausmaß von der Zeit ab, in der der Magen sich leert. "Aufschäumende" Arzneimittelmischungen verkürzen die "Entleerungszeit" des Magens teilweise wegen der schwachen Alkalität der Lösung und wahrscheinlich wegen des gebildeten Kohlendioxids (DAVISON, SMITH B.W., SMITH P.K., 1962). Die Verabreichung von Alkalisalzen erreicht einen zusätzlichen Effekt durch Modifizierung der Lösung der Salicylatpräparate.

LEONARDS (1962) untersuchte den Einfluß der Löslichkeit auf die Menge der gastrointestinalen Absorption von Aspirin. Die nächste

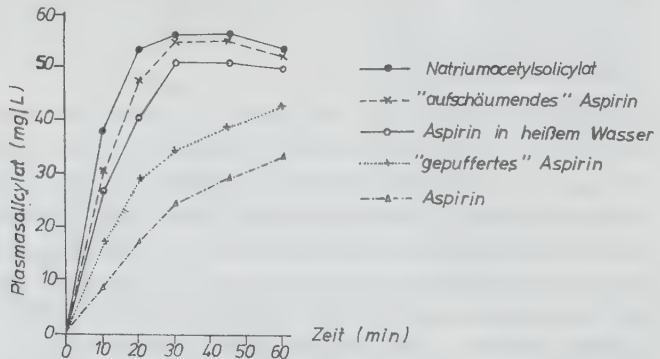
Tabelle 6 und die folgende Abbildung 3 bringen die Ergebnisse aus seiner Arbeit. Sie verdeutlichen, daß bei verschiedenen Aspirinpräparaten je nach ihren Absorptionseigenschaften verschieden hohe Plasmaspiegel in der gleichen Zeiteinheit erreicht werden.

Tabelle 6: Gesamtsalicylatspiegel im Plasma nach oraler Einnahme verschiedener pharmazeutischer Aspirinpräparate

Präparate	Zahl d. Probanden	Gesamt-Plasmasalicylat (mg/L)					
		10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	
Aspirin	48	9*	17	24	29	33	
"gepuffert"ASP	45	17	29	34	39	42	
"aufschäum"ASP	40	29	47	55	55	52	
Na-Acetylsalicyl.	25	38	53	55	56	53	
ASP i. heiß. Wasser	10	26	40	51	51	49	

* Standardfehler nicht aufgeführt

Abb. 3: Gesamtsalicylatspiegel im Plasma n. oraler Einnahme von 640 mg verschiedener pharmaz. Aspirinpräparate



Die schnellste Absorption und der früheste Gipfel im Blutspiegel wurde von den vollständig gelösten Präparaten erhalten, d.h. "aufschäumendes" Aspirin, Aspirin in Lösung und Natriumacetylsalicylat. Nach 10, 20, 30 Min. war der Plasmasalicylatspiegel dieser Präparate signifikant höher ($p=0,01$) als jener nach der Einnahme von gewöhnlichem Aspirin in Tablettenform oder "gepuffertem" Aspirin. (Vgl. auch Abb. 3) Mild gepufferte Aspirintabletten führen zu einer zeitweiligen Auflösung der Substanz im Magen, aber im sauren Milieu fällt die

Substanz langsam in mikrokristalliner Form aus, was dann zu einer größeren Absorptionsrate führt, als von der ungepufferten Acetylsalicylsäure zu erwarten wäre. Diese erhöhte Absorptionsrate der gepufferten Präparate, die zu einem schnelleren Erreichen höherer Plasmaspiegel führen, ist mit der Theorie nicht vereinbar, die besagt, daß es der nicht-ionisierte Anteil einer Substanz ist, welcher die Zellmembran durchdringt. Je feiner die Substanzverteilung, desto schneller löst sie sich; die sehr feine Verteilung im Magen zusammen mit einer schnelleren Passage in den Darm mit einer größeren absorbierbaren Oberfläche überwiegen augenscheinlich die einfacheren Faktoren wie z.B. ein weniger günstiger pH-Wert. LEVY, RUTOWSKY und GUMTOW (1961) haben auf die Wichtigkeit der Aufschließbarkeit, Lösungszeit und Partikelgröße bei der Salicylatabsorption hingewiesen.

E) Im Intestinum und Rektum

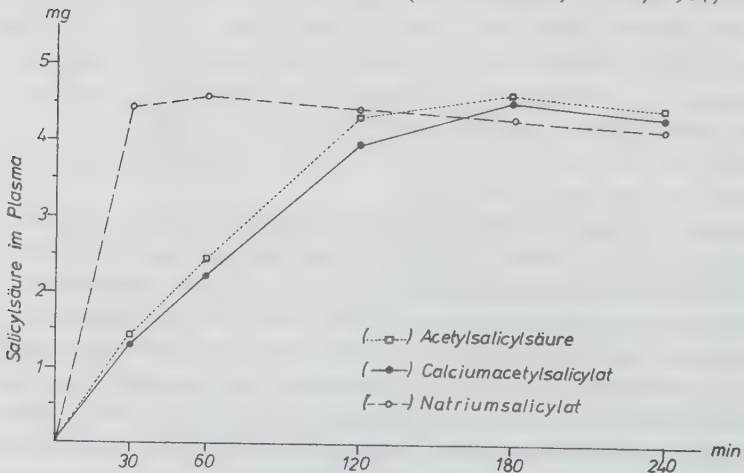
Die intestinale Absorption von Salicylsäure und Aspirin ist, wie zum Teil schon erwähnt, ebenso wie beim Magen von den physiko-chemischen Bedingungen im Darm abhängig (BRODIE, 1957). Wenn die Salicylsäure durch die Schleife des oberen Ileum beim Hund perfundiert wird, so beträgt die Absorption ungefähr 30 Min. danach 60 bis 70%. In der gleichen Zeit wird die Acetylsalicylsäure nur zu etwa 50% aufgenommen. Die intestinale Absorptionsrate der Salicylate hängt vom augenblicklich herrschenden pH-Wert ab und erreicht z.B. bei pH 4 etwa 64%, bei pH 8 nur noch 10%. Ähnlich verhält sich die Absorption der Acetylsalicylsäure.

NEUWALD und KUNZE (1964) verglichen beim Menschen die maximalen Blutspiegel von Acetylsalicylsäure, Calcium-acetylsalicylat und Natrium-salicylat nach rektaler Absorption aus verschiedenen Suppositorienfettgrundmassen. Sie stellten fest, daß das Schmelzverhalten der jeweiligen Trägermassen ein bedeutender Faktor dafür ist, ob ein Arzneistoff bei rektaler Applikation aus Zäpfchen resorbiert wird. Die Wasserlöslichkeit der Arzneimittel übt keinen unmittelbaren Einfluß auf die Resorption aus, da Acetylsalicylsäure und Calcium-acetylsalicylat gleich gut und schnell resorbiert wur-

den, obwohl ihre Löslichkeit erheblich differiert (Aspirin 1 : 300 und Calcium-Aspirin 1 : 6). Die Maxima im Resorptionsverlauf der Acetylsalicylsäure und des Calcium-Aspirins werden bei allen Versuchspersonen 3-4 Std nach der Verabreichung der Zäpfchen erhalten; sie liegen zwischen 4,40 mg% und 5,25 mg% bei Calciumacetylsalicylat und im Falle der Acetylsalicylsäure bei 3,45 mg% bis 5,30 mg%. Das sehr leicht wasserlösliche Natriumsalicylat zeigt ein abweichendes Absorptionsverhalten, da es bereits 30 Min. nach der Applikation eines Zäpfchens den maximalen Blutspiegel im Mittel von 4,41 mg% erreichte und fast 4 Std lang diesen Plasmaspiegel in der erreichten Höhe konstant halten konnte. In der Abbildung 4 ist der Absorptionsverlauf (Mittelwerte) der drei Salicylate nach Applikation von Zäpfchen mit 1,0 g Acetylsalicylsäure, 1,26 g Calciumacetylsalicylsäure und 0,89 g Natriumsalicylat unter Verwendung der Trägermassen Witepsol H15 und Witepsol H12 graphisch dargestellt. Die Konzentration der Salicylsäure im Plasma wurde in mg% bestimmt.

Abb. 4 : Absorptionsverlauf dreier Salicylate nach rektaler Applikation (die Konzentration der Salicylate wurde als Salicylsäure im Plasma bestimmt)

(nach NEUWALD, KUNZE, 1964)

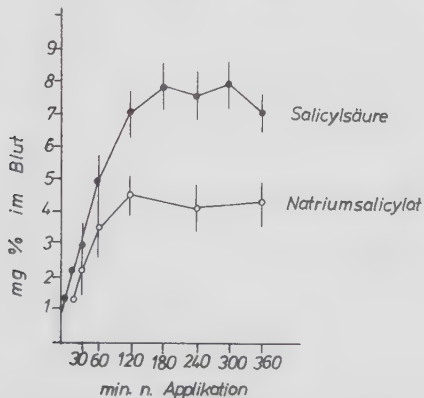


Ähnliche Ergebnisse erhielten LOWENTHAL und BORZELLECA (1965) bei Versuchen mit einer Hunderasse, deren gesamtes Intestinum (einschließlich des Rektum) nahezu gleich dem des Menschen war. Nach Verabreichung von 0,5 g Salicylsäure, der gleichen Menge Natriumsalicylat und Witepsol S 55 als Trägermasse, konnten sie für Natriumsalicylat eine mittlere Plasmakonzentration von 3,75 mg% bestimmen, für die Salicylsäure selbst einen Wert von 6,12 mg%. Die initiale Anstiegsrate war bei beiden Arzneistoffen gleich; zwischen 60 und 120 Min. stieg die Salicylsäure auf den doppelten Wert von durchschnittlich 6,12 mg% an. LOWENTHAL und Mitarb. nahmen an, daß die Salicylsäure in den Zäpfchen undissoziiert vorliegt und sie gerade in diesem chemischen Aggregatzustand vornehmlich absorbiert wird.

Die folgende Abbildung 5 zeigt den Verlauf der Salicylsäurekonzentration im Plasma von Hunden, denen 0,5 g Natriumsalicylat und 0,5 g Salicylsäure in der Suppositorienmasse Witepsol S 55 verabreicht worden war.

Abb. 5 : Plasmasalicylatspiegel bei Hunden nach Gabe von Salicylsäure und Natriumsalicylat in Suppositorien

(nach LOWENTHAL, BORZELLECA, 1965)



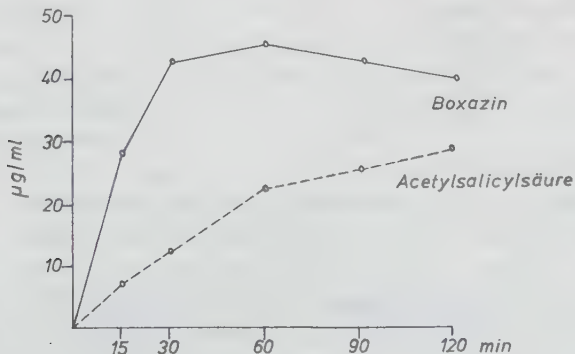
Die initiale Absorption erfolgt so rasch, daß nach der Freisetzung der Arzneimittelsubstanzen an der Suppositorienoberfläche bereits 5 Minuten später bei 16 von 17 Versuchstieren meßbare Mengen an Salicylat im Serum nachgewiesen werden konnten.

3. Bindung und Konzentration der Acetylsalicylsäure und Salicylsäure im Blut

A) Untersuchungen über die Konzentration im menschlichen Plasma

Wie schon beim Absorptionsverhalten der Salicylate ausgeführt, so hängt der Plasmasalicylatspiegel einmal von den verschiedenen Bedingungen am Absorptionsort und zum andern von der Form der angebotenen Arzneimittel ab. Nach einer oralen Dosis von 600 mg Aspirin ist die Durchschnittsspitze beim normalen Menschen im Plasma mit ungefähr 4 mg/100 ml nach 100-120 Min. erreicht. Nach der Einnahme von Aspirin bei einem Menschen, der gefastet hat, erreicht das Arzneimittel seinen Peak im Plasma bereits nach 40 Min., nach einer schweren Mahlzeit jedoch erst nach 3 Stunden. STAUDACHER und MÜLLER (1969) bestimmten den Plasmaspiegel bei 10 Probanden einmal nach Verabreichung der relativ schwerlöslichen normalen Acetylsalicylsäure (Menge von 600 mg in wässriger Suspension) und in einer zweiten Versuchsreihe mit BOXAZIN (eine Tablette enthält 330 mg Acetylsalicylsäure und 200 mg Ascorbinsäure). Gegenüber der Acetylsalicylsäure erreichte das BOXAZIN einen über 2 Stunden anhaltenden höheren Salicylatspiegel im Plasma mit einem kräftigen Initialanstieg auf das drei- bis vierfache in der ersten halben Stunde (siehe Abbildung 6).

Abb. 6 : Salicylatspiegel im Plasma in $\mu\text{g/ml}$, 15 bis 120 Min. nach oraler Einnahme von 2 Tabletten BOXAZIN bzw. 660 mg Aspirin (nach STAUDACHER u. Mitarb.)



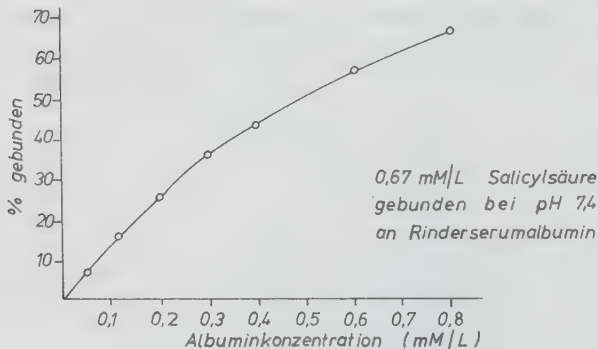
Ein großer Teil des Salicylats im Blut ist an Plasmaproteine gebunden. REYNOLDS und CLUFF (1960) zeigten, daß die Salicylsäure im menschlichen Plasma hauptsächlich an die Albuminfraktion gebunden ist. Das Ausmaß der Bindung hängt von der Dosis der verabreichten Salicylate und der Konzentration des Albumins ab. REYNOLDS und Mitarbeiter stellten in ihren Experimenten nach Reduzierung der Albuminkonzentration auch eine Abnahme der Proteinbindungsfähigkeit der Salicylate fest. Ihre akut erkrankten Patienten hatten eine erniedrigte Plasmaalbuminkonzentration; das zeigte sich unter anderem in ihrer erniedrigten Salicylatbindungsaktivität.

B) Untersuchungen über die Bindung und Konzentration in Rinder-
serumalbumin

DAVISON und SMITH (1961) hatten ähnliche Ergebnisse bei Versuchen mit Rinderserumalbumin erhalten, wie die Abbildung 7 zeigt :

Abb. 7: Bindung der Salicylsäure an Rinderserumalbumin in Prozent
bei verschiedenen Konzentrationen des Albumins

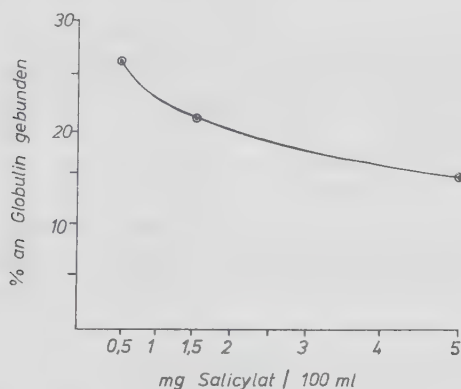
(nach DAVISON u. SMITH, 1961)



REYNOLDS und CLUFF konnten weder bei alpha- und beta-Globulinen noch bei gamma-Globulinen eine merkbare Salicylatbindung feststellen. Da-

gegen wiesen KUCERA und BULLOCK (1969) in Experimenten nach, daß die Salicylate in einer 3%igen Lösung menschlichen Globulins in geringen Mengen gebunden sind. Bei einem pH-Wert von 7,4 , bei einem Phosphatpuffer von 0,085 Mol und einer Ionenstärke von 0,15 sind bei 0,5 mg Salicylat/100 ml der oben genannten Globulinlösung immerhin 26 % an Globulin gebunden, bei 1,5 mg Salicylat/100 ml 21 % und bei 5 mg Salicylat/100 ml noch 16 % , wie Abb.8 zeigt.

Abb. 8 : Bindung von Salicylat an eine 3%ige Globulinlösung in Abhängigkeit von der Dosismenge



DAVISON und SMITH (1961) kamen in ihren Arbeiten zu dem Ergebnis, daß die Bindung der Salicylate an Albumin von der chemischen Beschaffenheit der Eiweißmoleküle und dem chemischen Aufbau des zu bindenden Arzneimittels, also der Salicyl- und Acetylsalicylsäure abhängt.

Aufgrund ihrer Untersuchungen sahen sie die Annahme von KARUSH (1950) bestätigt: es müssen zwei Orte der Bindung existieren, die KARUSH mit "Bindung vom Typ 1" und "Bindung vom Typ 2" bezeichnete. DAVISON und SPITZER (1959) nahmen nach den Ergebnissen ihrer Versuche ebenfalls 2 Arten der Wechselwirkung am Albuminmolekül an: eine an wenigen Bindungsstellen mit hoher Affinität und eine andere mit einer größeren Zahl an Bindungsstellen und geringerer Affinität; sie fanden

weiter-

hin, daß ein Blockieren der freien Aminogruppen am Albuminmolekül zu einem Verlust der Bindungsfähigkeit führt. DAVISON u. Mitarb. (1961) vermuteten, daß diese kationischen Zentren hauptsächlich Amino- und Guanidinogruppen im Molekül der Albuminfraktion sind, und die Bindung der Salicylsäure durch die freie Carboxylgruppe erfolgt.

Aus der folgenden Tabelle wird außerdem deutlich, daß eine Zunahme der Bindung pro Molekül Protein zu verzeichnen ist, wenn die Hydroxylgruppe näher an die Carboxylgruppe heranrückt. Die o-Hydroxylgruppe der Salicylsäure kennzeichnet die verstärkte Anziehung an das Proteinmolekül. Benzoesäure z.B. ist zwar in einem beträchtlichen Ausmaß gebunden, ähnlich dem p-Hydroxybenzoat, aber weniger als die ortho- oder meta-Isomeren. Den Einfluß der chemischen Konstitution einzelner Benzolabkömmlinge auf die Bindungsfähigkeit an Proteine macht die Tabelle 7 deutlich.

Tabelle 7 : Bindung verschiedener Benzolderivate an 0,1 mMol Rinder-serumalbumin (Werte nach DAVISON u. Mitarb., 1961)

Verbindung	Bezeichnung	pK	% gebunden		$K_1 \cdot 10^{-3} *$	$n_1 \text{ §}$	$K_2 \cdot 10^{-2} *$	$n_2 \text{ §}$
			2,667 mMol	0,083 mMol				
Benzoat		4,20	5	27	15	0,30	1,0	5,0
Monohydroxy- benzoat	Salicylsäure	2,97	9	46	30	0,37	8,0	3,5
2		4,08	5	26	15	0,40	1,0	5,0
3		4,08	5	16	8	0,44	1,0	6,0
4								
2-Acetoxy- benzoat	Acetylsali- cylsäure (Aspirin)	-	4	12	35	0,04	2,0	4,2

* Assoziationskonstante § Anzahl der Bindungsorte

Da sowohl die Carboxyl- als auch die Stellung der Hydroxylgruppe Einfluß auf die Bindungsfähigkeit haben, ist es verständlich, daß die Acetylsalicylsäure (siehe Tabelle 7) vom "niedrigen" Typ 1 gebunden wird. Zwar ist die Carboxylgruppe frei, die ortho-Hydroxylgruppe aber durch die Acetylgruppe abgeschirmt. Die Ergebnisse der Tabelle 7 zeigen weiter, daß bei einer Acetylsalicylsäurekonzentration von $2,667 \text{ mmol/l} \pm 48,0 \text{ mg/100 ml}$ Serum nur 4 % an Albumin, bei einer Konzentration von $0,083 \text{ mmol/l} \pm 1,59 \text{ mg/100 ml}$ Serum 12 % an Albumin gebunden war.

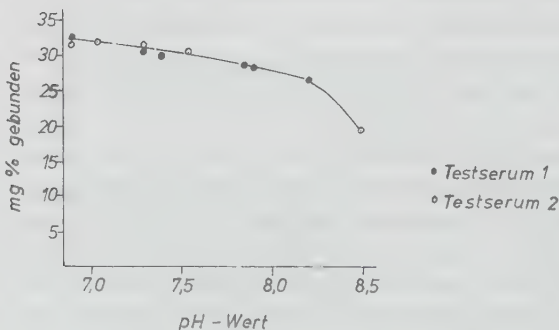
ALI und ROUTH (1969) bestätigten die Ergebnisse anderer Autoren in Versuchen mit C^{14} -Salicylsäure. Die Bindung von Acetyl-markierter Acetylsalicylsäure, die sogar nach der Hydrolyse keinen Anstieg der markierten Acetylsalicylsäure ergab, wich völlig von der der Salicylate ab. Unter den Bedingungen der Einzelzell- oder Ausgleichsdialyse wurde die Acetylsalicylsäure erst nach 53 Stunden, nachdem also vollständiger Konzentrationsausgleich erreicht worden war, an Albumin gebunden. Die Bindung der Acetylsalicylsäure, welche durch die Radioaktivität gemessen wurde, nahm während des ganzen Experiments kontinuierlich zu. Ein anderes unerwartetes Verhalten der beiden Arzneimittel beobachteten Ali u. Mitarb., als sie Mischungen von Acetylsalicylsäure und Salicylsäure studierten. Die Acetylsalicylsäure schien die Salicylsäure an ihren Bindungsstellen am Protein zu ersetzen, nachdem Salicylsäure schon gebunden war. Die Bindung von C^{14} -Salicylsäure an Eiweiß in Gegenwart von Acetylsalicylsäure, die mit der Einzelzellmethode und anschließender Gelfiltration gemessen wurde, nahm fortschreitend ab. In einem Kontrollexperiment stieg die Acetylsalicylsäurebindung in Gegenwart schon gebundener Salicylsäure. Da das Verhältnis der Mikromole von gebundener Salicylsäure zu den Mikromolen Eiweiß fast konstant blieb, weist dies mehr auf einen Ersatz der Salicylsäure durch Acetylsalicylsäure hin als auf eine zusätzliche Bindung vom "Additionstyp". Ob sich ähnliche Ergebnisse auch bei der Untersuchung der Bindungsverhältnisse von Serumproteinen ergeben, wird erst noch erforscht werden müssen, da man bisher davon ausging, daß die im Serum enthaltenen Esterasen die Acetylsalicylsäure nach der Aufnahme ins Blut sofort zu

Salicylsäure und Essigsäure spalten.

Als Folge der elektrostatischen Wechselwirkung der Salicylsäure mit den kationischen Zentren des Albuminmoleküls müßte sich bei Änderung des pH-Werts auch die Bindungsfähigkeit ändern, und zwar so, daß bei zunehmendem pH-Wert die Bindung abnimmt (MORAN und WALKER, 1967).

Welchen Einfluß eine pH-Änderung auf eine Gesamtsalicylatkonzentration im Serum von 50 mg/100 ml hat, zeigt die folgende Figur in Abbildung 9 :

Abb. 9: Beziehung zwischen pH-Wert und Menge der an Eiweiß gebundenes Salicylat (nach MORAN u. Mitarb., 1967)



Eine leichte Abnahme der Bindung bei steigendem pH-Wert liegt innerhalb der physiologischen Reichweite, ein stärkerer Abfall ist bei pH 8 zu verzeichnen.

DAVISON und SMITH (1961) glauben dagegen eine Tendenz für eine grössere Bindung bei pH 7 gegenüber pH 5 festgestellt zu haben, geben aber zu, daß dies auch bei ihren anderen Testsubstanzen (mit z.T. ähnlichen und verschiedenen chemischen Eigenschaften) der Fall gewesen sei.

C) Unterschiede der Bindungsfähigkeit des Plasmas bei verschiedenen Tierarten und beim Menschen

KURTZ und FRIEMEL (1967) bestimmten die Bindung einer Anzahl von chemisch und pharmakologisch verschiedenen Substanzen an Plasma-proteinen bei einzelnen Tierspezies. Die Messung erfolgte nach der Dialysemethode bei pH 7,4, wobei die Substanz in annähernd isomolarer Konzentration (10^{-4} mol) verwendet worden ist. Die Zahlen in der Tabelle 8 drücken für die Salicylsäure den gebundenen Anteil in Prozent aus.

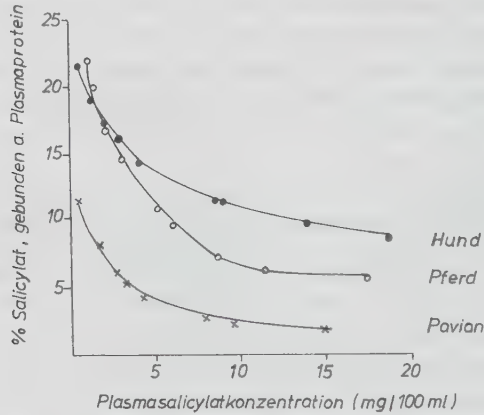
Tabelle 8 :

Substanz	gebundener Anteil in %						
	Rind	Schwein	Hund	Mensch	Kaninchen	Meerschwein	Ratte
Salicylsäure	64,0	74,6	53,6	82,1	84,9	72,4	60,8
Albuminfraktion %			43,0	61,5	66,8	54,5	54,3

KURTZ und Mitarb. konnten keinen Zusammenhang zwischen artspezifischen Unterschieden der Plasmakonzentrationen und den Unterschieden in der Proteinbindung finden, wohl aber vermuten, daß ein Zusammenhang zwischen den artspezifischen Unterschieden der Albuminkonzentration besteht.

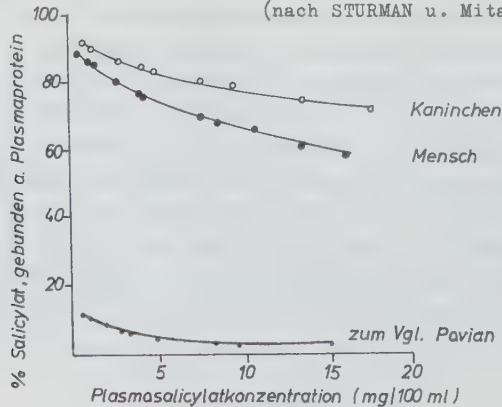
DAVISON und SMITH (1961) fanden bei niedriger Salicylatkonzentration, daß menschliches Albumin eine größere Salicylataffinität als Rinderserumalbumin aufweist. POTTER und GUY (1964) berichteten, daß Hundeplasma weniger Salicylat bindet als menschliches Plasma (sie verwendeten zur Dialyse ein Dextran-Gel-Filtersystem). STURMAN und SMITH (1967) untersuchten diese Unterschiede bei mehreren Tierarten und beim Menschen. Ihre Ergebnisse zeigen, daß man die verschiedenen Arten in zwei Hauptgruppen einteilen kann. Der ersten Gruppe gehören Pavian, Pferd, Maus, Ratte und Hund an. Die nächste Abbildung zeigt das Verhältnis des gebundenen Salicylats zur Plasmasalicylatkonzentration (Abb.10) :

Abb.10: Verschiedene Verhältnisse gebundenen Salicylats zur Plasma-Salicylatkonzentration beim Hund, Pferd und Pavian
(nach STURMAN u. Mitarb., 1967)



Zur zweiten Gruppe zählen u.a. Rhesusaffe, Kaninchen, Meerschweinchen. Das Plasma dieser Gruppe weist eine viel größere Affinität zu Salicylaten auf; es ähnelt in seinem Verhalten mehr dem des Menschen (Abb.11):

Abb.11: Verschiedene Verhältnisse gebundene Salicylats zur Plasma-Salicylatkonzentration beim Kaninchen und beim Menschen
(nach STURMAN u. Mitarb., 1967)



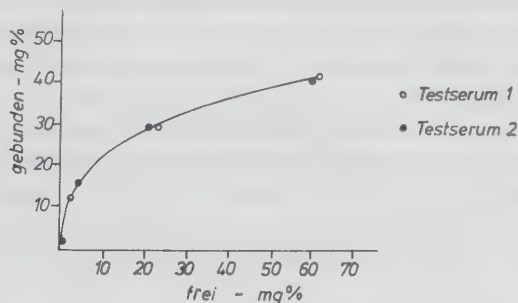
STURMAN und Mitarb. führen die geringe Bindungsfähigkeit auf einen relativen Mangel an Amino- und Guanidinogruppen in den Molekülen der Albuminfraktion bestimmter Tierarten zurück. (DAVISON u. Mitarb., 1961, machen gerade diese Gruppen für die Bindung der Salicylate an Albumin verantwortlich).

STURMAN und Mitarb. gaben außerdem noch an, daß größere Anteile freien Salicylats im zirkulierenden Blut dieser relativ niedrig bindungsfähigen Arten nach Verabreichung der Substanz vorkommen können. Bei diesen Arten würde dann ein verstärkter Übertritt freien Salicylats vom Blut in die Zellen stattfinden und eine zunehmende Eliminationsrate des Arzneimittels aus dem Kreislauf wäre die Folge.

Da wahrscheinlich der freie Anteil eines Arzneimittels für die pharmakologische Wirkung verantwortlich ist, kann die Zunahme des freien Salicylats im Plasma unter Umständen für den Patienten entscheidend sein. Wenn beim kranken Menschen die Albuminkonzentration erniedrigt ist, die Salicylatbindung aber von dieser abhängt, so ist offensichtlich von Natur aus gesorgt, daß weniger gebundenes Salicylat und mehr pharmakologisch wirksames freies Salicylat bei erniedrigter Albuminkonzentration vorhanden ist (REYNOLDS und CLUFF, 1960).

Die folgende Graphik zeigt die Kapazität des menschlichen Serums Salicylat zu binden und den Prozentsatz des freien Salicylats, untersucht von MORAN und WALKER (1967)

Abb.12: Beziehung zwischen gebundenem und freiem Salicylat im normalen menschlichen Serum (in mg %)



D) Acetylierung von Serumalbumin durch Acetylsalicylsäure

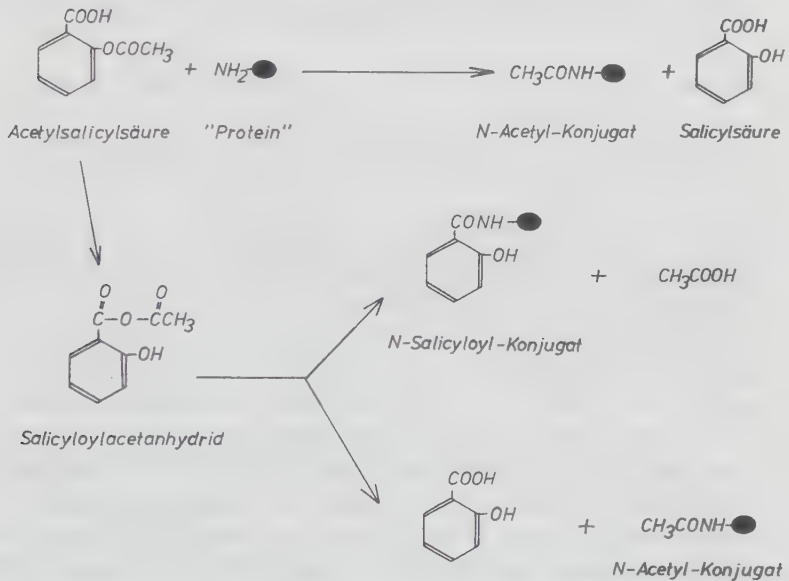
In den USA haben FARR und MINDEN (1967), HAWKINS, PINCKARD, CRAWFORD und FARR (1969) und FARR (1970) neben der Aspirylierung der Acetylsalicylsäure vor allem auf eine chemische Reaktion hingewiesen : die Acetylierung. Diese Autoren hatten entdeckt, daß Acetylsalicylsäure eine ganze Reihe von Körperproteinen in vitro und in vivo acetyliert.

FARR, HAWKINS und PINCKARD (1968) konnten mit radioaktiver Acetylsalicylsäure, die entweder an der Carboxylgruppe oder an der Acetylgruppe mit ^{14}C markiert war, zeigen, daß während der Inkubation von ^{14}C -Acetylsalicylsäure mit menschlichem Serumalbumin bei neutralem pH-Wert pro Molekül Albumin 1,2 bis 1,4 Acetylgruppen fest gebunden werden; bei einem pH-Wert zwischen 9 und 10 werden bis zu 3 Acetylgruppen pro Molekül Albumin gebunden. Nach HAWKINS und Mitarb. (1969) geschieht die Acetylierung von menschlichem Serumalbumin an einem bestimmten Peptid, d.h. an einer besonders kritischen Stelle des Albuminmoleküls. Die Acetylierung des Albumins gerade an dieser Stelle hat eine irreversible Änderung der Konformation des Albuminmoleküls zur Folge - sie stellt eine Denaturierung von Protein dar.

Acetylierung von menschlichem Serumalbumin findet aber nicht nur durch Inkubation in vitro statt, sondern tritt auch nach Verabreichung von Aspirin im Körper des Menschen auf. Modifizierte Albuminmoleküle, die nach der Einnahme von Acetylsalicylsäure entstanden sind, bleiben noch für Wochen im Kreislauf nachweisbar.

Ob solche acetylierten Albuminmoleküle immunogen wirken - wie MINDEN und FARR (1967) durch radioimmunelektrophoretischen Nachweis von Antikörpern glaubten bewiesen zu haben - bleibt fragwürdig. DE WECK (1971) konnte zwar die (in der Einleitung beschriebene) Sensibilisierung gegen Acetylsalicylsäureanhydrid und die Aspirylgruppe nachweisen, nicht aber dagegen verschiedene acetylierte Proteine.

Nachfolgendes Reaktionsschema zeigt (vereinfacht nach DE WECK) die möglichen Wege der Acetylierung von Proteinen:



Daß Acetylsalicylsäure nicht nur Serumalbumin, sondern auch eine ganze Reihe anderer Proteine acetylieren konnte, bewiesen Untersuchungen von PINCKARD, HAWKINS und FARR (1968). Es stellte sich heraus, daß verschiedene Serumproteine durch Inkubation mit Acetylsalicylsäure sehr unterschiedlich acetyliert werden: sehr stark vor allem die IgM-Globuline, Hämopectin und α_2 -Makroglobuline. Verschiedene Enzyme, Hormone und auch Ribonuclease ließen sich ohne weiteres acetylieren. Nach den Reaktionsbedingungen in vitro ist es zwar sehr wahrscheinlich, daß solche Acetylierungsreaktionen auch im Körper vorkommen. Der Nachweis, daß tatsächlich in vivo nach Einnahme therapeutischer Dosen Acetylsalicylsäure solche Reaktionen ablaufen, wurde noch nicht erbracht.

4. Veränderung der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure im Körper des Menschen

A) Übersicht über die prozentuale Verteilung der Konjugations- und Oxidationsprodukte der Salicylsäure

Ein geringer Teil der Salicylsäure wird direkt als Salicylat oder freie Salicylsäure ausgeschieden. Ein Anteil der verabreichten Salicylsäure bildet mit Glycin das Konjugat Salicylursäure, ein o-Hydroxyanaloges der Hippursäure. Es ist seit langer Zeit bekannt, daß dieses Produkt der Hauptmetabolit der Salicylate ist. ALPEN und Mitarb. bestätigten dies im Versuch mit Radiokohlenstoff-markiertem Salicylat. Salicylursäure wird unverändert, d.h. in keiner anderen konjugierten Form im Urin ausgeschieden.

Die beiden anderen Metaboliten der Salicylsäure sind zum einen das Kopplungsprodukt der Glukuronsäure, also Ester- und Ätherglukuronide, und zum anderen ein Oxidationsprodukt der Salicylsäure, nämlich die Gentisinsäure. Letztere wird hauptsächlich unkonjugiert ausgeschieden, jedoch fanden BATTERMAN und SOMMER (1953) und ARATA und MANGIOLA (1962) nach Verabreichung von Gentisinsäure oder Aspirin auch ein Gentisinsäurekonjugat. Die Glukuronide können zwar von mehreren Organen synthetisiert werden, doch ist vornehmlich die Leber der Hauptort der Bildung. Wegen der schnelleren renalen Clearance der Glukuronide, verglichen mit der der Salicylate, überschreitet der Plasmaspiegel die Salicylglukuronide beim Menschen niemals 1 % des Salicylatspiegels (SCHACHTER, MANIS, 1958).

ALPEN, MANDEL, RODWELL und SMITH (1951) fanden bei Versuchen mit C^{14} -markierter Carboxylgruppe der Salicylsäure folgende Metabolitenverteilung beim Hund : 50 % unveränderte Salicylsäure, 25 % Glukuronsäurekonjugate, 10 % Salicylursäure und 4-5 % Gentisinsäure im Urin. Beim Menschen erhielten sie im Durchschnitt 53 % Salicylsäure, 17,5 % Salicylursäure, 26,5 % Glukuronsäurekonjugate und etwa 1 % Gentisinsäure. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die bei den einzelnen Patienten erhaltenen Werte :

Tabelle siehe nächste Seite

Tabelle 9 : Salicylsäuremetaboliten im Urin des Menschen
(nach ALPEN u. Mitarb., 1951)

Proband Urin-pH		% des Gesamtsalicylats				
		SA	SU	GE	Glukuronid	
					an -OH	an -COOH
1	6,5	10	50	1	30	10
2	8,5	70	5	1	25	0
3	5,0	85	0	1	12	3
4	6,7	60	15	1	20	5

SA = Salicylsäure SU = Salicylursäure GE = Gentisinsäure

Dabei fällt auf, daß beim Menschen im Urin zwei Konjugationsprodukte der Salicylsäure mit Glukuronsäure identifiziert worden sind, von dem eines eine freie Salicylhydroxylgruppe enthält (ALPEN und Mitarb. entdeckten keine weiteren Glukuronsäurekonjugate bei Salicylsäure-Metaboliten.). In Hundeurin fanden sie dagegen nur ein Glukuronidkonjugat der Salicylsäure.

B) Die Desacetylierung (Hydrolyse) der Acetylsalicylsäure

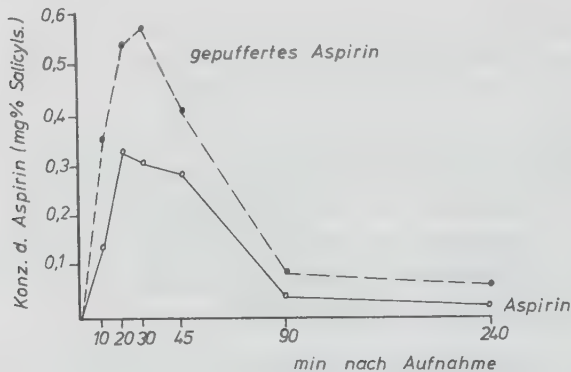
a) beim Menschen

Der Metabolismus der Acetylsalicylsäure unterscheidet sich etwas von dem der Salicylsäure und ihrer Salze. Der Acetylester der Salicylsäure wird von Acetylerasen im Plasma und im Gewebe zu Salicylsäure hydrolysiert. Trotz dieser schnellen enzymatischen Hydrolyse berichten MANDEL mit CAMBOSOS und SMITH (1954) und LEONARDS (1962), daß ein merkbarer Betrag der Acetylsalicylsäure mithilfe von radioaktiv markiertem Kohlenstoff noch 2 Stunden nach seiner oralen Verabreichung entdeckt werden kann.

Nach DAVISON und SMITH binden Plasmaproteine die Acetylsalicylsäure aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften in viel geringerem Ausmaß als die Salicylsäure, so daß ein größerer Betrag für die Ausscheidung zur Verfügung stehen könnte. CUMMINGS und KING (1966) fanden, daß der Durchschnittsbetrag der ausgeschiedenen Acetylsalicylsäure beim Menschen etwa 1,5 % der eingenommenen Menge beträgt. Wird Acetylsalicylsäure in einer löslicheren Form gegeben, so folgt daraus wegen der schnelleren Absorption auch ein höherer Plasmaspiegel;

aus der Abbildung 13 wird das deutlich. Offensichtlich wird der Ester nicht im Darmlumen hydrolysiert, sondern nur während oder nach der Absorption.

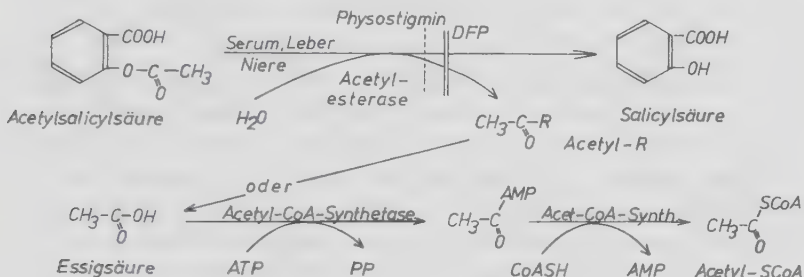
Abb.13: Durchschnittlicher Aspirinspiegel im Serum von 20 Versuchspersonen nach Verabreichung von 600 mg einfacher und gepuffter Aspirintabletten (nach MORGAN u. TRUITT, 1965)



LESTER und Mitarb. berichteten schon 1946, daß menschliches Plasma die Acetylsalicylsäure hydrolysieren könne, belegten dies aber nicht durch Analysenergebnisse und konnten keine Angaben machen, ob dieser Prozeß auf enzymatischem Weg stattfinden würde. VANDELLI, SCALTRITTI (1943) (zit. nach MORGAN u. TRUITT, 1965) konnten außer im Blut auch in mehreren Geweben (z.B. Niere, Leber) Hydrolyse von Acetylsalicylsäure nachweisen. Das hydrolysierende Enzym Acetylsalicylsäureesterase ist trotz seines speziellen Namens kein spezifisches Enzym, sondern gehört zu einer Gruppe von Enzymen, die als Acetyl esterassen bekannt sind. Es unterscheidet sich von der Acetylcholinesterase insoweit, als es von Physostigmin geringfügig, von Diisofluorophosphat (DFP) völlig gehemmt wird. Cyanid- und Calciumionen beeinflussen diese Esterase nicht; sie wird durch Erhitzen zerstört (VINCENT und LAGREU, 1950 ; GLASSON, 1951).

Von den Autoren AUGUSTINSSON und NACHMANSON (1949) und BASTIDE (1955) ist dieses hydrolisierende Enzym klar von der Pseudocholinesterase im Serum abgegrenzt worden.

Die Spaltung der Acetylsalicylsäure erfolgt demnach so :



MORGAN und TRUITT (1965) untersuchte zunächst die Hydrolyserate bei 20 gesunden Erwachsenen. (Bezeichnung der Versuchspersonen A - R) Eine Blutmenge von 5 ml wurde jeder Versuchsperson abgenommen. Das Serum wurde abgetrennt (für den Versuch selbst 0,1 ml der Menge verwendet) und nach Zugabe einer Acetylsäurelösung (1 ml Acetylsalicylsäure + Trispuffer mit pH 7 + 0,9 ml destilliertes Wasser) die Serumhydrolyserate mithilfe eines Beckmann-Spektrophotometers bestimmt. Die Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung (k) variierte von $k=0$ bei Versuchsperson B (d.h. völliges Fehlen einer enzymatischen Reaktion) und $k=9,1429 \cdot 10^{-2}$ bei Versuchsperson O (Durchschnittswert für 18 Personen $k=4,7418$). Letztere Konstante ließ eine vollständige Hydrolyse dieser relativ großen Menge Acetylsalicylsäure ($0,1 \text{ ml} = 2,4 \cdot 10^{-3} \text{ Mol}$) in 10-11 Stunden erwarten. Diese breite Variabilität zwischen individuellen Hydrolyseraten stellen einen wichtigen Faktor für die jeweilige Höhe des Acetylsalicylsäureblutspiegels dar. Auf diese Variabilität wiesen MANDEL u. Mitarb. (1954) in ihrer Arbeit ausdrücklich hin. Bei in-vivo-Messungen der Hydrolyse im menschlichen Blut zeigte sich, daß die Aktivität der Aspirinesterase im Blut diejenige im Serum bei weitem übertrifft.

Für die durchschnittliche Hydrolyserate (von 11 Versuchspersonen) im Blut wurde eine Konstante $k = 11,7 \cdot 10^{-2} \text{Std}^{-1}$ bei 25°C ermittelt, die Halbwertszeit $t_{1/2}$ betrug 5,9 Stunden.

Im Serum (von 18 Versuchspersonen) wurde eine mittlere Konstante k von $4,74 \cdot 10^{-2} \text{Std}^{-1}$ bei 25°C gemessen, die einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 14,7$ Stunden entsprach.

HARRIS und RIEGELMAN (1967) halten diese Werte von MORGAN und TRUITT für zu ungenau. Sie meinen vielmehr, daß eine 30-fache Verdünnung des Bluts und des Serums bei einer Konzentration von $2,4 \cdot 10^{-3} \text{Mol}$ Acetylsalicylsäure (entsprechend $433 \mu\text{g/ml}$) nicht zulässig sei, da die Extrapolation zurück zu unverdünntem Serum bzw. Blut verfälschte Zahlenwerte liefere. Bei stark verdünntem Plasma und hohem Aspirinspiegel "überschwemme" die hohe Acetylsäurekonzentration das Enzymsystem und verursache eine Reaktion, die einem kinetischen Prozeß nullter Ordnung gleichkäme. Erwarten würde man allerdings einen Prozeß zweiter Ordnung, da die Hydrolyse sowohl von der Enzym- als auch von der Substratkonzentration abhängt. HARRIS u. Mitarb. (1967) hatten in ihren Untersuchungen das Blut von 5 gesunden Erwachsenen (eine Frau u. vier Männer) zur Verfügung. Blut und Plasma wurden um 10 % verdünnt, die initialen Aspirinkonzentrationen betrugen $13 \mu\text{g/ml}$ und $6,5 \mu\text{g/ml}$; die Versuche fanden bei 37°C statt. Spektrofluorometrisch wurden die Hydrolyseraten der Acetylsalicylsäure bestimmt. Die Autoren erhielten dann folgende Halbwertszeiten $t_{1/2}$ der Acetylsalicylsäurehydrolyse bei 37°C und 90 Vol.% Blut bzw. Plasma (beim Menschen) :

(Tabelle siehe nächste Seite)

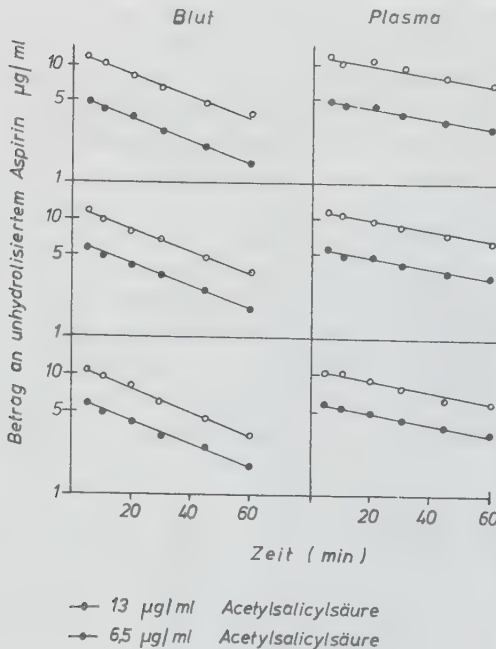
Tabelle 10: Halbwertszeiten der Acetylsalicylsäure-Hydrolyse in Minuten, bei 37°C in 90 Vol % Blut und Plasma des Menschen (nach HARRIS u. Mitarb., 1967)

Versuchsperson	Initiale Acetylsalicylsäure-Konzentration					
	von 13 $\mu\text{g/ml}$		im Plasma		von 6,5 $\mu\text{g/ml}$	
	im Blut	min ($t_{1/2}$)	min ($t_{1/2}$)	im Blut	min ($t_{1/2}$)	im Plasma
A	38,5		62,5			
B*	35		56			
	30,5		72	27,5		80
	28		68			
C*	33		70	28		65
	32		68,5	31		70
	27		67			
D*	31		57	30,5		63
	31,5		58	31		68
	30		67			
	32,5		80			
E	35		65			
Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	32,0 $\pm$ 0,91		65,9 $\pm$ 1,98	29,6 $\pm$ 0,77		69,2 $\pm$ 2,96

* Bei Versuchspersonen B, C, D wurde bis zu vier mal zu verschiedenen Zeiten Blut abgenommen, um einen zuverlässigeren Mittelwert zu erreichen

Die Halbwertszeiten von MORGAN und TRUITT bei 30-facher Serumverdünnung und 33-facher Aspirinkonzentration rechneten HARRIS und RIEGELMAN in einem Korrekturverfahren auf 90 Vol % um. Dabei lagen die Werte für Blut um 6 min., für Serum um 15 min.; sie sind damit um $\frac{1}{5}$ bzw. $\frac{1}{4}$ niedriger als die von HARRIS gemessenen. Typische Hydrolyseraten der Acetylsalicylsäure im Blut und im Plasma sind in der nachstehenden Abbildung dargestellt. Die Hydrolyse wurde 60 min. lang bei zwei Aspirininitialspiegeln von 13 $\mu\text{g/ml}$ und 6,5 $\mu\text{g/ml}$ in Blut und Plasma verfolgt.

Abb.14 : Der Verlauf der Hydrolyse von Acetylsalicylsäure im Blut (links) und Plasma (rechts) bei 3 Versuchspersonen (nach HARRIS u. Mitarb., 1967)



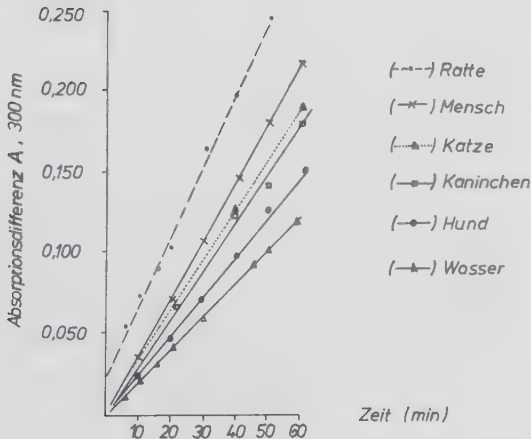
Die Beobachtung, daß die Hydrolyse im Blut zweimal so schnell verläuft wie im Plasma, läßt eine höhere Konzentration an hydrolisierenden Enzymen oder zusätzliche Enzyme vermuten. Rote Blutkörperchen enthalten bekanntlich Acetylcholinesterasen. CLINE (1965) berichtet in einer Arbeit, daß Esterasen auch in Leukozyten gefunden wurden.

b) bei verschiedenen Tierarten

MORGAN und TRUITT (1965) verglichen Acetylerase-Aktivitäten bei Katzen, Kaninchen, Hunden und Ratten. Sie punktierten bei Katzen und Hunden die Vena jugularis, bei Ratten und Kaninchen das Herz und bestimmten nach Abtrennung des Serums vom Blut die spontane und enzymatische Hydrolyserate in der beim Menschen beschriebenen Weise.

Um eine Übersicht über die Hydrolyseraten bei den jeweiligen Tierarten und der Hydrolyserate beim Menschen zu erleichtern, wurden die Serumkonstanten in die nachfolgende Abbildung 15 und zusätzlich die mittlere Kurve der spontanen Hydrolyse in Wasser eingezeichnet.

Abb.15 : Ein Vergleich der Serumaspirinhydrolyse des Menschen mit vier Labortierarten und spontaner Aspirinhydrolyse in Wasser
(nach MORGAN u. Mitarb., 1965)



Aus dieser Abbildung ist ersichtlich, daß Katze und Kaninchen sich in ihrer Hydrolyserate der des Menschen nähern, während Hunde eine viel langsamere Rate aufweisen. Ratten zeigen dagegen eine viel schnellere Hydrolyse als der Mensch.

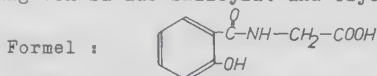
In sehr viel früheren Untersuchungen bestimmten VINCENT und LAGREU (1949) die Hydrolyseaktivität im Meerschweinchen Serum und fanden eine 10 mal höhere Aktivität verglichen mit der des menschlichen Serums.

5. Bildung und Ausscheidung der verschiedenen Salicylsäuremetaboliten

A) Über die Konjugation der Salicylsäure (SA) mit Glycin und die Menge der ausgeschiedenen Salicylursäure (SU)

a) Einfluß des konjugierenden Enzymsystems auf die Salicyluratbildung

Salicylursäure (SU): Der Mensch hat eine sehr begrenzte Kapazität für die Bildung von SU aus Salicylat und Glycin.



Da das Erscheinen der Salicylatmetaboliten im Urin mengenmäßig mehr durch ihre Bildung als durch ihre renale Ausscheidung bestimmt wird, konnten LEVY und AMSEL (1966) zeigen, daß die SU-Bildung beim gesunden Menschen mithilfe der Michaelis-Menten-Kinetik beschrieben werden kann.

Die Geschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion ist nur dann direkt proportional der Substratkonzentration, wenn das Enzym in einem beträchtlichen Ausmaß vorhanden ist. Bei höherer Substratkonzentration wird die Geschwindigkeit relativ langsamer und bei sehr hohen Substratkonzentrationen, wenn sich das Enzym der Sättigung mit dem Substrat nähert, strebt die Geschwindigkeit einem begrenzenden oder maximalen Wert zu. CUMMINGS u. Mitarb. (1965) zeigten in ihren Versuchen, daß bei Überschreitung der Serumsalicylatkonzentration von 0,3 mMol = 4 mg/100 ml einer der Syntheseprozesse der SU mit maximaler Geschwindigkeit abläuft. Das könnte nach CUMMINGS u. Mitarb. die Folge einer fortschreitenden Sättigung des Enzyms durch die Synthese selbst sein, und auf dieser Basis könnte die Bildungsrate der SU durch die Menge der verfügbaren Enzyme am Ort des Metabolismus begrenzt sein.

CUMMINGS u. Mitarb. ziehen als weitere Möglichkeit ein sog. Carriersystem in Betracht, welches bei hohen Substratkonzentrationen einspringen könnte. Die Bildungsrate der SU auf dieser Basis wäre dann durch die Kapazität des Carriers, der für den Transportmechanismus verantwortlich ist, beschränkt.

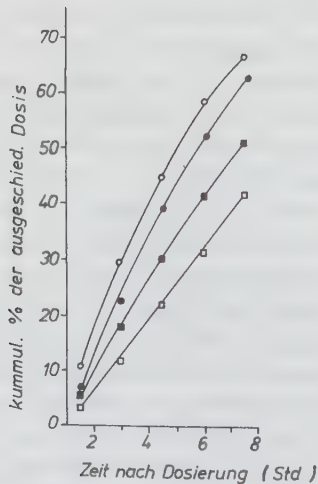
Bei einem Anstieg der Dosierung von Salicylaten tritt eine relative

Verminderung der Ausscheidung der SU ein, wie BEDFORD, CUMMINGS und MARTIN (1965) in ihren Experimenten nachweisen konnten, d.h. die ausgeschiedene SU nimmt nicht mit steigender Dosierung zu; die anderen Salicylderivate scheinen aber proportional mit der Dosierung anzusteigen. Die nebenstehende Tabelle zeigt die Ausscheidung der SU und der anderen Metaboliten der SA durch fünf Versuchspersonen (männlich). Zu getrennten Zeitpunkten erhielt jeder eine orale Dosis von 2 , 4 , 8 und 12 mg Acetylsalicylsäure pro kg Körpergewicht. Die Menge der SU ist als Äquivalent der SA angegeben (Tabelle 11).

Tabelle 11 siehe nächste Seite

Die anschließende Abbildung verdeutlicht die Ergebnisse der Tabelle und zeigt die kumulative Prozentzahl der Dosis, welche als SU ausgeschieden wird von fünf Männern, die 2 mg (○), 4 mg (●), 8 mg (■) und 12 mg (□) Acetylsalicylsäure pro kg Körpergewicht erhielten.

Abb.16 : Ausscheidung von SU nach Gabe verschiedener Dosen Aspirin
(nach BEDFORD u.Mitarb.1965)



Es scheint, so BEDFORD u. Mitarb., daß bei der Überschreitung eines bestimmten Salicylatspiegels im Körper eine Begrenzung der Rate, welche als SU im Urin erscheint, eintritt. Ob dies nun eine Beschränkung der SU-Bildungsrate, eine Beschränkung der renalen Clearance rate zuzuschreiben ist, oder ob eine Änderung der renalen Clearance eine verstärkte SU-Kumulation verursacht, die wiederum die weitere Bildung von SU hemmt, bleibt noch zu diskutieren.

Tabelle 11: Die Ausscheidung von Salicylsäure (SU) und anderer Salicylsäure-Metaboliten (SA) durch fünf männliche Probanden. (nach BEDFORD, CUMMINGS, MARTIN, 1964)

Zeit der Urin- sammlung nach der Verabreichung (Std)	Ausscheidung von Salicylur - u. Salicylsäure (mg) pro Dosis Aspirin (mg/kg)									
	2mg		4mg		8mg		12mg		SA	SA
	SU	SA	SU	SA	SU	SA	SU	SA		
1,5	61,5	19	3,3							
3,0	105,5	22	4,8		134	54	2,5		111	67
4,5	89,0	17	5,3		261	75	3,5		284	107
6,0	73,0	15	4,9		280	77	3,6		334	107
7,5	53,0	10	5,2		262	72	3,7		345	101
					214	50	4,3		350	93
Gesamt- ausscheidung	382	83	4,6		1151	328	3,5		1424	475
% der Dosis, ausgeschieden in 7,5 Std		83,1		77,6		65,0				56,0

b) Wirkung von Glycinverabreichung auf die Salicyluratbildung

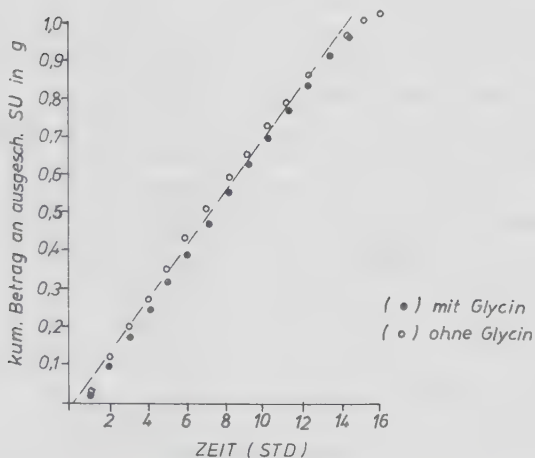
Ein weiterer Faktor, welcher die SU-Bildung einschränken könnte, wäre die Menge des Glyzins, das an den Ort der Synthese geschafft werden müßte. Es hat widersprüchliche Berichte über die Wirkung der Glycinverabreichung auf die SU-Bildung gegeben. Noch 1961 berichteten GHAZAL und WRIGHT über den Einfluß von Glyzin bei toxisch wirkenden Salicylatausscheidungen bei Hunden, wobei die SU und die gesamt Salicylatausscheidung gesteigert worden sei und sie dabei drei Hunde vor Vergiftung bewahren konnten. Man ging von der Annahme aus, daß die Bildung der SU analog der Bildung der Hippursäure verlaufen würde. QUICK, 1931, DE VRIES und ALEXANDER, 1948, DEISS u. COHEN, 1950, konnten auch eine bemerkenswerte Steigerung der Bildungsrate der Hippursäure oder p-Aminhippursäure nach Verabreichung von exogen zugeführtem Glyzin feststellen. Ein ähnlicher Effekt des Glyzins auf die Bildungsrate der SU aus SA bzw. deren Salzen könnte eine effektive Behandlung bei Salicylatvergiftung gewährleisten. Aber im Gegensatz zu GHAZAL u. Mitarb. konnten NELSON, HANANO und LEVY, (1966), weder bei ihren Rattenversuchen noch bei Untersuchungen am Menschen eine Erhöhung der SU-Bildung durch Glyzingabe nachweisen:

Tabelle 12 : Wirkung von Glycin auf den Salicylat-Metabolismus
im Menschen (nach NELSON u. Mitarb., 1966)

Versuchsperson	Dosis) ₁ in g	verabr. Glycin) ₂	Salicylate im Urin			
			Gesamt-SA) ₃ in mg	SU mg	SA mg	SA-Glu) mg
1	1,5	nein	1490	1221	119	159
	1,5	ja	1448	1136	138	167
2	2,0	nein	1958	1260	262	348
	2,0	ja	1938	1270	225	355

- ₁) als Aspirin ₂) 5 g , 1 Std. vor Aspirin-Gabe,
 dann 2,5 g je Stunde 10 Dos. lang
₃) Salicylglukuronide als Aspirin-Äquivalent

Abb. 17: Kumulativer Betrag der ausgeschiedenen Salicylursäure beim Menschen nach Gabe von 1,5 g Aspirin, einmal mit Glycin u. einmal ohne Glycin
(nach NELSON u. Mitarb., 1966)



Ähnliche Ergebnisse erhielten BEDFORD u. Mitarb. (1965) bei Experimenten über die Ausscheidung des Gesamtsalicylats nach verschiedenen Dosierungen von Acetylsalicylsäure (Aspirin). Der Effekt sowohl der Glycinverabreichung als auch der Lösung der Acetylsalicylsäure in Wasser war nach der ersten Stunde in einer leichten Steigerung der Ausscheidung von Salicylursäure im Urin feststellbar, was in beiden Fällen auf einen initialen Anstieg der Absorptionsrate zurückgeführt werden kann. Es scheint, daß die Mobilisation von Glycin im Falle der Salicylursäure-Bildung nicht der die Bildungsrate begrenzende Faktor ist.

GHAZAL und WRIGHTS Berichte wurden durch NELSON u. Mitarb. überprüft; sie stellten keinen Einfluß von Glycin bei Salicylatvergiftungen von Ratten fest. Die Verabreichung von Glycin hatte weder auf die intraperitoneale LD 50 von Salicylat auf Ratten noch auf die Überlebenszeit nach Verabreichung der tödlichen Dosis eine Wirkung.

Tabelle 13: Einfluß von Glycin auf die LD 50 (in mg/kg) der Salicylsäure bei Ratten.

(nach NELSON u. Mitarb., 1966)

Behandlung	Zahl d. Serien)*			Geometr. Mittel
	1	2	3	
RINGER-Lösung	661	794	708	719
Glycin	741	708	794	746

)* fünf Ratten pro Serie

Die Kinetik der Salicylursäure-Formation ist trotz vieler Einzelergebnisse nicht bis ins Detail bekannt und der letzte, limitierende Schritt der Konjugation muß deshalb vorläufig noch Gegenstand von Spekulationen sein. BEDFORD u. Mitarb. nehmen wenigstens zwei Prozesse an, welche durch das jeweils vorhandene Salicylat selbst gesteuert werden; von Salicylaten ist bekannt, daß sie den Transport bestimmter Aminosäuren durch die Zellmembranen unterdrücken (QUASTEL, 1963) und diese Tatsache kann den begrenzten Zugang des Glycins zum konjugierenden Enzym am Ort der SU-Synthese zur Folge haben. Dies wird indirekt dadurch bestätigt, daß durch zusätzliche Gabe von Glycin die SU-Syntheserate nicht nennenswert geändert wird (NELSON u. Mitarb., BEDFORD u. Mitarb., CUMMINGS u. Mitarb.).

Salicylat ist aber auch für die Entkopplung der Oxidation und Phosphorylierung verantwortlich und seine Gegenwart könnte den

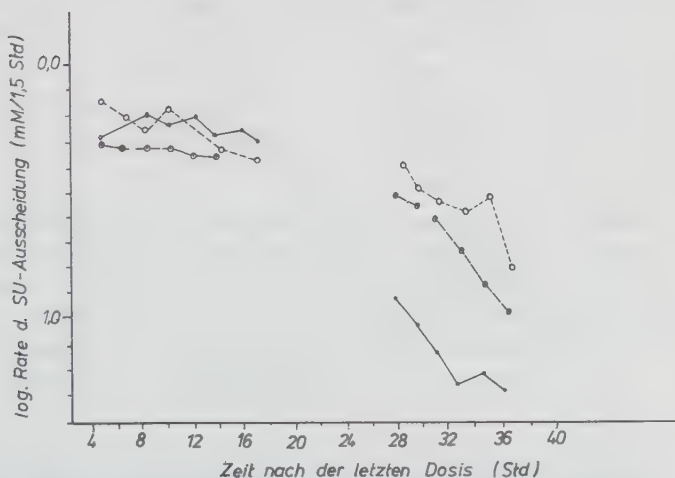
Betrag des verfügbaren Adenosintriphosphats (ATP), welches die Geschwindigkeit der Reaktion bestimmen mag, einschränken.

c) Ausscheidungsrate der Salicylursäure

CUMMINGS und MARTIN (1965) zeigen in einer Studie die Ausscheidung der Salicylursäure im Urin von drei Männern, die zwischen der 5. und 16. Stunde und der 26. und 35. Stunde nach Erhalt einer Enddosis Acetylsalicylsäure bestimmt wurde. Die logarithmische Rate der Ausscheidung (in mMol pro 1,5 Stunde) gegen die Zeit stimmen mit den von BEDFORD erzielten Versuchsergebnissen überein :

Abb. 18 : Ausscheidungsrate der Salicylursäure im Urin von drei Männern nach Gabe von Acetylsalicylsäure)*

(nach CUMMINGS u. Mitarb., 1965)

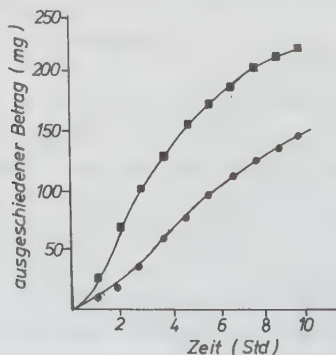


)* Abfall der Ausscheidungsrate, nachdem jeder der drei Probanden 6 Dosierungen von 0,972 g Aspirin in ungefähr 6-stündigem Intervall erhielt.

Obwohl die Exkretion der SU in den ersten Zeitabschnitten fast konstant ist, vermindert sich die Rate bis zur 20. Stunde ganz leicht und kontinuierlich. Danach sinkt die Exkretionsrate schneller und die Kurve fällt steil ab. Die maximale Ausscheidungsrate der SU bewegt sich zwischen 0,6 bis 0,92 mmol/1,5 Std, das sind 8 - 12 mg/100 ml pro 1,5 Std.

LEVY und AMSEL berichteten 1966 von einem Einfluß von Benzoat auf die Konjugation der Salicylsäure mit Glycin. Nach Verabreichung von Natriumbenzoat nahm die SU-Bildungsrate bis fast auf die Hälfte der Kontrollwerte ab. Die Wirkung des Na-Benzoats auf die Salicylursäurebildungsrate und der SU-Betrag geht aus der nächsten Abbildung hervor.

Abb. 19: Kumulative Exkretion der SU als Funktion der Zeit nach alleiniger Gabe von 300 mg Natriumsalicylat (●) und nach halbstündiger, zusätzlicher Gabe von 590 mg Natriumbenzoat, beginnend 2 Std. vor der Salicylateinnahme (■).



Fluktuationen der Salicylatausscheidungsrate, die nicht in Beziehung zur Benzoatverabreichung standen, traten infolge einer pH-Änderung im Urin auf. Diese Ergebnisse weisen auf die Möglichkeit hin, daß der inhibitorische "kompetitive" Effekt des Benzoats auf eine Inhibition der tubulären renalen Sekretion zurückgeführt werden könnte.

Verabreicht man SU alleine und mit Natriumbenzoat, so zeigt sich, daß das letztere bestenfalls nur gering die Kinetik der SU-Ausscheidung beeinflußt (siehe Abbildung 19). Wahrscheinlich ist, daß eine geringe Abnahme der SU-Excretionsrate der Tatsache zuzuschreiben ist, daß der durchschnittliche pH-Wert im Urin bei Experimenten mit Benzoat ungefähr eine Einheit niedriger war als bei Kontrollexperimenten.

Tabelle 14: Einfluß von Natriumbenzoat auf die Salicylursäure-Ausscheidung (nach LEVY u. AMSEL , 1966)

Experiment	erhaltener Betrag an SU (mg)			Konst.d. Elimin.rate (Std ⁻¹)	Konst. d.renal. Aussch.(Std ⁻¹)
	Gesamt	frei	als Konjugat*		
SU alleine	192	176	16	0,866	0,762
SU mit Benzoat§	201	169	32	0,730	0,617

* ausgedrückt in mg SU Äquivalent

§ 590 mg Natriumbenzoat alle halbe Stunde, beginnend 2 Std. vor u. endend 8 Std. nach oraler Gabe von 200 mg SU

Da p-Amino-salicylsäure, p-Amino-benzoessäure und auch Benzoessäure selbst beim Menschen ebenfalls teilweise in Konjugaten mit Glycin ausgeschieden werden, ist dieser kompetitive Effekt des Benzoats verständlich. LEVY (1965) weist darauf hin, daß die maximale Bildungsrate der Hippursäure (des Konjugationsprodukts der Benzoessäure) zwanzigmal höher ist als die der Salicylurat-Bildungsrate.

LEVY und AMSEL (1966) konnten in diesen Experimenten außerdem zeigen, daß eine kleine Fraktion der SU zu einem säurelabilen Konjugat biotransformiert wird, möglicherweise als Glukuronid. Dies wurde früher schon in Kaninchenversuchen beobachtet, kann bei Menschen aber durch Verabreichung von Salicylaten nur schwer demonstriert werden.LEVY, AMSEL und ELLIOT (1969) erhielten u.a. nach oraler Gabe von SU an Erwachsene 90 % und mehr unverändert (als SU) im Urin zurück und zusätzlich wurden ungefähr 5 % als ein säure-

labiles Konjugat ausgeschieden.

d) Salicylursäure als ein Metabolit der Aminosäure L-Tryptophan

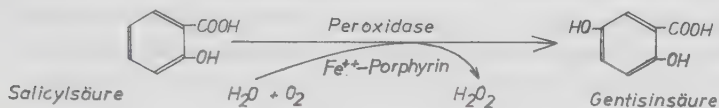
Salicylursäure tritt aber nicht nur als Hauptmetabolit der Salicylate auf, sondern konnte von AUSTAD, CLAMP, WESTALL (1965) auch als ein Metabolit der Aminosäure L-Tryptophan nachgewiesen werden. Von 23 normalen Individuen, die von ihnen untersucht wurden, schieden 9 einen unbekannten Metaboliten aus, nachdem sie oral L-Tryptophan verabreicht bekamen. Die Anwesenheit von Acetylsalicylsäure oder Salicylsäure wurde streng ausgeschlossen. Ein Stoffwechselprodukt konnte mithilfe von Dünnschichtchromatographie als Salicylursäure identifiziert werden. Diese Autoren glauben, daß durch bakterielle Tätigkeit im Colon Salicylsäure aus L-Tryptophan entsteht, die dann absorbiert wird und nach Konjugation mit Glycin als Salicylursäure ausgeschieden wird. Die Herkunft aus dem Darm wird durch die folgenden Tatsachen unterstützt :

Einmal tritt der Gipfel der Ausscheidung von Salicylursäure 10 bis 14 Stunden nach der oralen Einnahme von L-Tryptophan auf, was beträchtlich später ist als der Ausscheidungsgipfel von Tryptophanmetaboliten endogenen Ursprungs. Zum zweiten wird Salicylursäure nicht im Urin von Patienten gefunden, die zuvor das Antibiotikum Neomycin erhielten. Und zum dritten verursacht die Gabe von L-Tryptophan direkt in den Darm eine viel größere Ausscheidung von Salicylursäure verglichen mit der oral verabreichten Dosis.

B) Bildung der Gentisinsäure und Menge ihrer Ausscheidung

a) Oxidation der Salicylsäure

Die Salicylsäure wird zu einem geringen Teil als ihr Oxidationsprodukt Gentisinsäure im Körper ausgeschieden. Die Bildung der Gentisinsäure geschieht durch Hydroxilierung mit Peroxidase, einem Häm-Enzym, welches diese Reaktion katalysiert. Bedingungen hierfür sind das Vorhandensein von Sauerstoff und Dihydroxyfumarat, das als Co-Substrat dient.



Die Einführung der Hydroxylgruppe in aromatische und heterozyklische Verbindungen geschieht in einer relativ unspezifischen Weise; das läßt den sehr niedrigen Prozentsatz an ausgeschiedenem Oxidationsprodukt Gentisinsäure verständlich werden. Die Mengenangaben der einzelnen Autoren sind unterschiedlich. Dies ist auf die verschiedenen Versuchsbedingungen und auf die unterschiedlich verabreichten Dosismengen zurückzuführen. Die nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über die im Urin als Gentisinsäure ausgeschiedene Salicylsäure:

Tabelle 15: Vergleich der von verschiedenen Autoren angegebenen Menge Gentisinsäure, die im Urin ausgeschieden wurde

Autoren	verabreichte Dosis SA, Na-SA, ASA in g	Gentisins.excretion	
		Gesamt-GE	freie GE
ALPEN , MANDEL , RODWELL, SMITH P.K. 1951	Hund 1,0 g	4 - 5 %	
	Mensch 1,0 g	1 %	
BATTERMAN, SOMMER 1953	Mensch 3 x 0,3 g tägl.	6,1 %	0,53 %
BOREHAM , MARTIN 1969	Mensch 0,32 g	0,6 %	
	Mensch 1,28 g	1,1 %	
BOREHAM , CUMMINGS, MARTIN (unveröffentl)	Mensch 4,0 g	1,3-3,3 %	

SA=Salicylsäure, Na-SA=Natriumsalicylat, ASA=Acetylsalicylsäure

b) Einfluß der Dosismenge auf die ausgeschiedene Menge an Gentisinsäure

Die Abhängigkeit der ausgeschiedenen Gentisinsäure von der Menge der verabreichten Dosis wiesen BOREHAM und MARTIN (1969) in einem Experiment nach. Sie verabreichten 6 gesunden Männern oral eine Einzeldosis von 0,32 g Acetylsalicylsäure und sammelten den Urin 33 Stunden lang. 48 Stunden nach Verabreichung der ersten Dosis bekamen die Versuchspersonen 1,28 g Acetylsalicylsäure; der Urin wurde ebenfalls 33 Stunden lang gesammelt. Den Betrag der Gentisinsäure, die von den 6 Männern nach Verabreichung von 0,32 g und 1,28 g Acetylsalicylsäure ausgeschieden wurde, zeigt die unten stehende Tabelle:

Tabelle 16 : Ausscheidung der Gentisinsäure in Abhängigkeit der gegebenen Menge an Acetylsalicylsäure (n.BOREHAM u.Mit.1969)

Proband	Dosis 320 mg		Dosis 1280 mg		R= $\frac{\%v.1280mg \text{ Dosis}}{\% v. 320mg \text{ Dosis}}$
	mg	%d.Dosis	mg	% d.Dosis	
A	1,2	0,4	13,3	1,2	3,0
B	1,3	0,5	14,5	1,3	2,6
C	2,1	0,8	11,1	1,0	1,3
D	0,8	0,3	11,0	1,0	3,3
E	2,3	0,8	11,3	1,0	1,3
F	1,3	0,5	9,8	0,9	1,8
	Durchschn: 0,6		Durchschn: 1,1		Durchschn: 2,2

Dabei zeigt sich, daß bei einer Steigerung der Dosismenge um das Vierfache die Ausscheidung fast um das Doppelte gesteigert wird. Der durchschnittliche Quotient R ($R = \frac{\% \text{ von } 1,28 \text{ g d. Dosis}}{\% \text{ von } 0,32 \text{ g d. Dosis}}$) beträgt 2,2. In einer Berechnung des Quotienten nach einem Modell, das annimmt, daß die Ausscheidung der Salicylsäure nach einem kinetischen Prozeß erster und nullter Ordnung verläuft, konnten BOREHAM und Mitarb. die gute Übereinstimmung mit ihren experimentellen Ergebnissen nachweisen. Der Quotient im Modell reichte von 1,5 bis 3,0, der im Experiment beobachtete von 1,3 bis 3,3.

c) Änderung der Ausscheidung der Gentisinsäure durch Alkalinisierung und Acidifizierung

BATTERMANN und SOMMER (1953) untersuchten den Einfluß von Alkalinisierung und Azidifizierung auf das Schicksal der Gentisinsäure. Man verabreichte Versuchspersonen u.a. in einer 7-tägigen Folge 3 mal 300 mg Natriumsalicylat pro Tag, um eine gewisse Sättigung zu gewährleisten und wiederholte die Versuche mit zusätzlicher Verabreichung von Natriumbikarbonat, verdünnter Salzsäure und Ammoniumchlorid zu den jeweiligen Mengen an Natriumsalicylat. Die Wirkung dieser sauren und alkalischen Mittel auf die erhaltene Salicylatmenge und ihrer Gentisinmetaboliten im Urin geht aus der nebenstehenden Tabelle 17 hervor.

Annähernd 68 % des verabreichten Natriumsalicylats wurde nach 24 Stunden aus dem Urin erhalten, 6 % davon als Gentisinsäure. Bei gleichzeitigem Verabreichen von Natriumbicarbonat stieg die gesamte Salicylatausscheidung um 28%; die Ausscheidung der Gentisinsäure stieg auf 8,4 % (die Ausscheidung der Gentisinsäure wurde über $\frac{1}{3}$ gesteigert!). Obwohl ein absoluter Anstieg der freien Gentisinsäure zu verzeichnen war, änderte sich das Verhältnis der freien zur gebundenen Gentisinsäure nicht.

Ansäuerung mit verdünnter Salzsäure ergab eine Abnahme der gesamten Salicylatausscheidung auf 51 %. Diese Verminderung der Ausscheidung schlug sich auch in der erhaltenen Menge an Gentisinsäure nieder und zwar auf Kosten der gebundenen Gentisinsäure - das Verhältnis der freien zur gebundenen Gentisinsäure blieb aber unverändert. Die gleichzeitige Gabe von Ammoniumchlorid zu Natriumsalicylat ergab jene typische Veränderung, wie sie auch bei der Azidifizierung durch verdünnte Salzsäure aufgezeigt worden war.

BATTERMANN und SOMMER (1953) und ARATA und MANGIOLA (1962) wiesen darauf hin, daß sowohl bei der Verabreichung von Gentisinsäure als auch von Aspirin ein Teil der Gentisinsäure in konjugierter Form auftritt. 62 % der gesamtausgeschiedenen Gentisinsäure wurden nach

Tabelle 17: Einfluß von Alkalinisierung und Acidifizierung auf die Wiedergewinnung von Salicylat und seiner Gentisin-Metaboliten. (Die Werte stellen den Mittelwert der Ausscheidung für jede individuelle Gruppe (6 Patienten/Serie) dar und sind der Durchschnittsbetrag von 3 aufeinanderfolgenden Tagen)
(nach BATTERMAN, SOMMER, 1953)

Gruppe	wieder- erhalt. Gesamt- SA*, mg Mittelw.	wieder- erhalt. SA in % d.ver- abreich. SA	wieder- erhalt. Gesamt- GE\$, mg Mittelw.	wieder- erhalt. freie GE\$, mg	wiederer- halt. GE\$ in % d. verab- reicht. SA		Aenderung d. erhalt. GE\$ in % infolge Alkalinisierg. u. Acidifizg.	Aenderung d. erhalt. SA in % infolge Alkalinisierg. u. Acidifizg.
					Ges.	frei		
SA	617	68,6	54,6	4,8	6,1	0,53	-	-
SA + NaHCO ₃	790	87,6	78,2	7,2	8,4	0,79	+37,7	+49,1
SA + HCl	457	50,7	48	5,0	5,3	0,55	-13,1	+ 3,7
SA + NH ₄ Cl	431	47,8	46	4,1	5,1	0,46	-16,4	-13,2
								-30,3

*SA = Salicylat \$GE = Gentisinsäure

Verabreichung dieser Substanz wiedererhalten, 42 % in der freien Form.

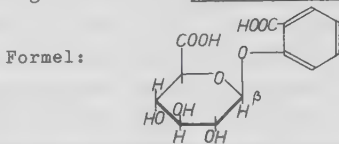
ALPEN und Mitarb. (1951) konnten zwar nach Hydroxilierung der Glukuronidfraktion keine freie Gentisinsäure entdecken; falls das Oxidationsprodukt der Salicylsäure aber möglicherweise mit der Glukuronsäure konjugiert sei, so sei nach ALPEN und Mitarb. das Gentisinkonjugat mit ihrer Methode nicht zu bestimmen gewesen.

BOREHAM und MARTIN (1969) gehen auf die Art der Konjugate nicht ein, tragen ihr aber insoweit Rechnung, als sie den Urin vorsichtshalber 30 Minuten mit Säure erhitzen, um eventuelle Konjugate zu hydrolysieren und um so die gesamte vorhandene Gentisinsäure zu erfassen.

C) AUSSCHIEDUNG DER SALICYLSÄURE UND KONJUGATION MIT GLUKURONSÄURE

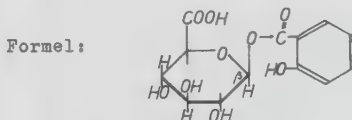
a) Struktur und Biosynthese der Salicylglukuronide

Als Konjugationsprodukte der Salicylsäure mit Glukuronsäure werden zwei Glukuronide gebildet. Das Ätherglukuronid,



auch O-Glukuronid, oder allgemeiner Salicylphenolglukuronid (SPG) genannt, bildet den größeren Teil, ist gegen verdünntes Alkali stabil und wird durch Säure hydrolysiert.

Einen geringeren Anteil hat das Esterglukuronid mit der

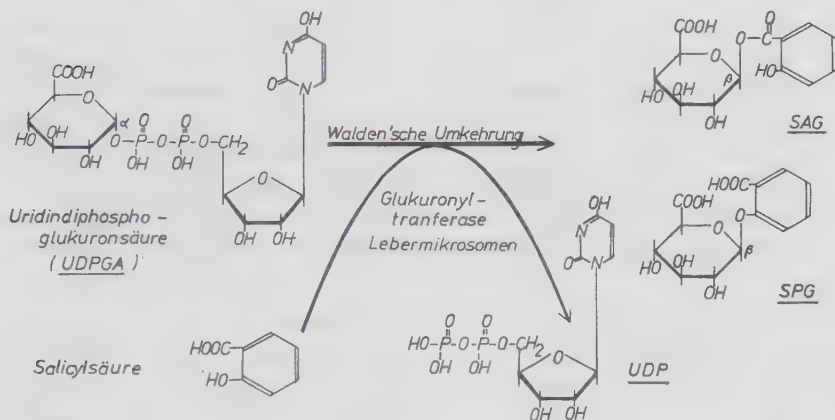


Das Esterglukuronid ist Alkali-labil, besitzt eine freie Phenolhydroxylgruppe und reduziert alkalische Kupfersalzlösungen. Es wird in der Literatur auch als Salicylacylglukuronid (SAG) bezeichnet, um klar die Konjugation über die Carboxylgruppe auszudrücken. Ort und Mechanismus der Glukuronidbildung konnten von DUTTON, STOREY (1954) und SMITH, MILLS (1954) geklärt werden. In einem Versuch mit Rattenleber hatten sie anhand des Morphins den Ursprung der Uridindiphosphoglukuronsäure (UDPGA) nachgewiesen.

Die Biosynthese der Glukuronide erfolgt vorzugsweise in der Leber. Die Niere ist ebenfalls zur Glukuronidsynthese befähigt, in geringem Umfang wird dies auch für die Magenschleimhaut, den Darm und die Lunge angegeben (WILLIAMS, 1959).

Mit Hilfe des Ferments Glukuronyltransferase, das in den Mikrosomen der Leberzellen lokalisiert ist, wird Glukuronsäure auf den zu konjugierenden Akzeptor Salicylsäure übertragen. Dazu muß die Glukuronsäure in einer aktivierten Form als UDPGA vorliegen. UDPGA

entsteht durch enzymatische Oxidation (UDPG-Dehydrogenase und Cofaktor Nikotin-Adenin-Dinukleotid=**NAD**) der UDP-1-Glukose im Cytoplasma der Leber, da das Glukuronsäurephosphatglied in der Uridindiphosphoglukuronsäure α -Konfiguration besitzt, also von der β -Glukuronidase nicht angegriffen wird (**STOREY, DUTTON, 1955**), muß eine sog. **Walden'sche Umkehrung** stattfinden, denn die konjugierten Glukuronsäuren zeigen ohne Ausnahme β -Konfiguration. Im folgenden Schema ist die Konjugation der Salicylsäure mit der "aktivierten" Glukuronsäure dargestellt :

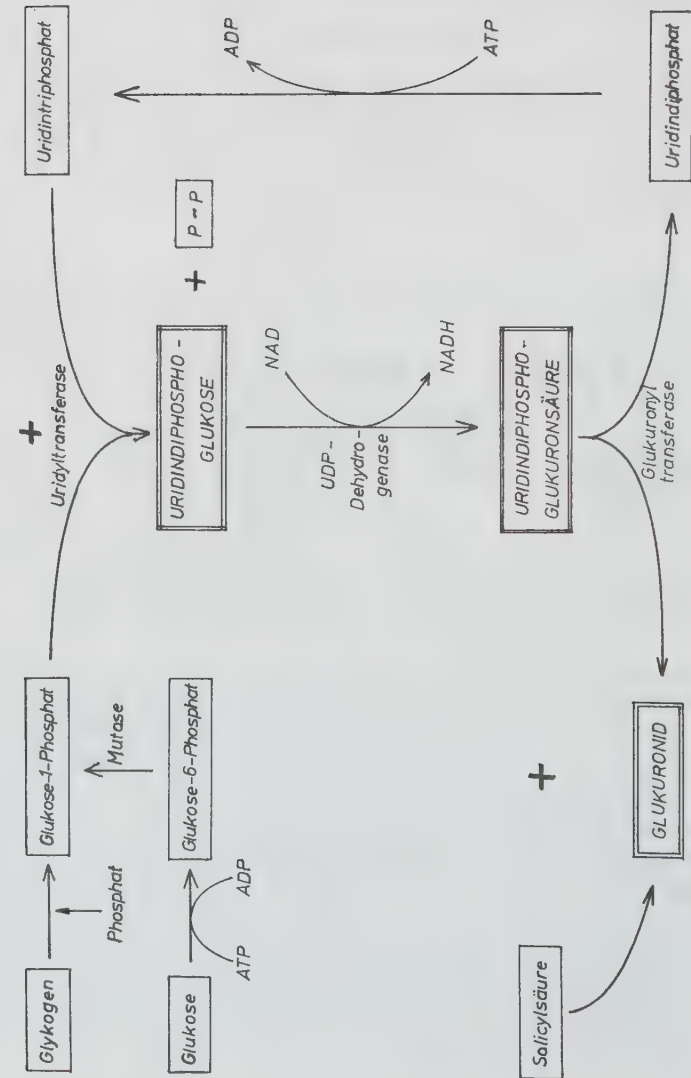


Ein Reaktionsschema soll die Synthese und die Konjugation der Glukuronsäure noch einmal verdeutlichen (Abbildung 2o nächste Seite).

Zur Abbildung 2o :

Aus Glykogen entsteht beim glykogenolytischen Abbau primär Glukose-1-Phosphat, das auch aus Glukose-6-Phosphat durch eine Mutasereaktion gebildet werden kann. Glukose-1-Phosphat reagiert mit Uridintriphosphat (UTP) unter Einwirkung der Uridyl-Transferase zu Uridindiphosphatglukose. Die Bildung der UDP-Glukuronsäure erfolgt durch Wasserstoffabspaltung mithilfe der UDP-Dehydrogenase; als Wasserstoffakzeptor dient das NAD. Von der UDPGA wird die Glukuronsäure auf einen Akzeptor, z.B. eine OH-Gruppe bzw. COOH-Gruppe der Sali-

Abb. 20 : REAKTIONSSCHEMA ZUR SYNTHES UND KONJUGATION DER GLUKURONSÄURE



cylsäure, übertragen, ohne selbst frei zu werden. Das freigewordene UDP wird mit Adenosintriphosphosäure (ATP) zu UTP phosphoryliert und damit kann ein weiteres Molekül Glukose-1-Phosphat in den Entgiftungsprozeß eingeschleußt werden.

Das an der Glukuronidbildung beteiligte Enzym Glukuronyltransferase erreicht als sog. "adaptives" Ferment erst einige Zeit nach der Geburt seine volle Aktivität. Beim Foetus und Neugeborenen ist nur eine geringe Aktivität der Glukuronyltransferase in der Leber nachzuweisen (BROWN u. Mitarb., 1958, DUTTON, 1959, INSCOE und AXELROD, 1960, FORST, 1966). In den ersten Tagen nach der Geburt ist die Inaktivierung des Bilirubins durch Glukuronsäurekopplung noch gering; das nicht mit Glukuronsäure konjugierte "indirekte" Bilirubin kann nicht ausgeschieden werden. Die Folge ist unter anderem der sog. Ikterus neonatorum, eine vorübergehende Hyperbilirubinämie, die nach INSCOE und AXELROD (1960) und MATTHEY (1964) auf eine unzureichende Entwicklung des glukuronidbildenden Enzymsystems zurückzuführen ist.

Über die Glukuronyltransferaseaktivität berichten HÄNNINEN und AITIO (1968), daß diese Enzymtätigkeit in der Leber nach Verabreichung von cancerogenen und antipyretischen Substanzen zunimmt. Außer in der Leber und in den Nieren sind besonders die mukösen Membranen des Gastrointestinaltraktes bei der Biosynthese der Glukuronsäureglukuronide aktiv. HÄNNINEN und Mitarb. beobachteten nach Gabe von Salicylamid einen Anstieg der UDP-Glukosedehydrogenase und UDP-Glukuronyltransferase.

b) Konzentration der Salicylglukuronide im Plasma

SCHACHTER und MANIS (1958) verabreichten eine orale Dosis von 0,4 mMol (0,0533g) pro kg Körpergewicht Natriumsalicylat, entweder in Lösung oder in Gelatine kapseln an 21 normale Männer im Alter von 14 bis 63 Jahren (eine maximale Dosis von 30 mMol = 4 g wurde nicht überschritten). Danach erschienen feststellbare Mengen von Salicylurat, Salicylacylglukuronide und Salicylphenolglukuronide im Plasma

der einzelnen Versuchspersonen. Die durchschnittlichen Konzentrationen, die nach der Salicylatverabreichung zu verschiedenen Zeiten bestimmt wurden, sind der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 18: Plasmakonzentrationen von Salicylkonjugaten nach oraler Gabe von Natriumsalicylat (nach SCHACHTER u. Mitarb.)

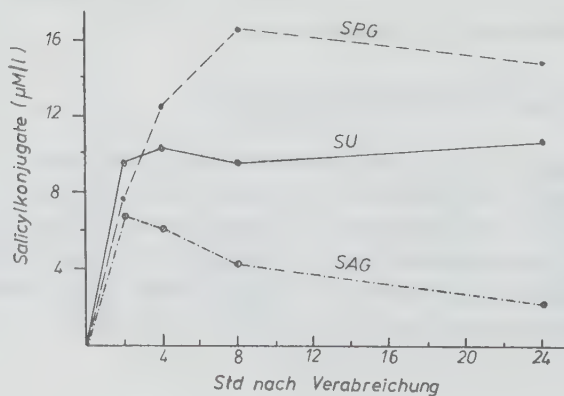
Std. nach Verabreichg.	Zahl d. VP.) ₁	Plasmakonzentration) ₂			
		SA	SU	SAG	SPG
2	18	1782±245*	9,8±1,9	6,8±2,1	7,7±3,5
4	19	1628±179	10,1±2,3	6,2±1,7	12,5±4,1
8	7	1400±110	9,5±2,0	4,3±0,7	16,4±2,3
24	9	467±200	10,5±2,2	2,2±1,1	14,8±4,6

)₁VP= Versuchspersonen)₂Konz. in $\mu\text{M/l}$ Plasma als Mittelwert
 * Entspricht 24 mg % $\pm$ Standardabweichung

SA = Salicylat ; SU = Salicylurat ; SAG = Salicylacylglukuronid
 SPG = Salicylphenolglukuronid

Die Änderung der Höhe der Plasmaspiegel beider Salicylglukuronide in verschiedenen Zeitabschnitten ist in der nächsten Abbildung dargestellt.

Abb. 21 : Graphische Darstellung der obigen Tabelle



Maximale Plasmakonzentrationen von Salicylat, Salicylurat und Salicylacylglukuronid wurden innerhalb von 2 Std. nach der Verabreichung beobachtet, wenn mittlere Spiegel von 1,7 , 9,8 und 6,8 $\mu\text{mol/l}$ erreicht wurden. Die maximale Konzentration des Salicylphenolglukuronids wurde nach 8 Std. bei einem Plasmaspiegel von 16,4 $\mu\text{mol/l}$ festgestellt. Der Salicyluratspiegel und der Salicylglukuronidspiegel fiel fortwährend, die Plasmakonzentrationen von Salicylurat und Salicylphenolglukuronid dagegen blieben 24 Std. lang annähernd konstant. Salicylat war die Hauptsalicylatverbindung im Plasma mit einer Konzentration, die das 70fache der Salicylkonjugate nach 2 Std. und das 15fache nach 24 Std. betrug.

c) Über die Menge der ausgeschiedenen Glukuronide im Urin

Die maximale Urinausscheidungsrate der Salicylkonjugate, wie aus der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen sind, geben die Bildungskapazität und das Ausscheidungsvermögen beim normalen Menschen an.

Tabelle 19: Maximale Raten der Ausscheidung von Salicylkonjugaten im Urin nach einer oralen Dosis von (0,4 mMol (0,0533g)/kg (nach SCHACHTER, MANIS) Körpergewicht) Natriumsalicyl.

Metaboliten	Anzahl der Probanden	Std. nach Verabreichg.*	Maximale Ausscheidungsrate i.Urin ₁
Salicylurat	19	2-6	5,2 $\pm$ 1,1
SAG	19	2-6	1,9 $\pm$ 0,4
SPG	6	6-10	1,3 $\pm$ 0,2
Gesamte Salicylglukuronide	19	2-6	3,0 $\pm$ 0,6
Gesamte Salicylkonjugate	19	2-6	8,1 $\pm$ 1,1

*Periode, während der die max. Excretionsrate beobachtet wurde

₁ Mikromol/Minute; Mittelwert $\pm$ Standardabweichung

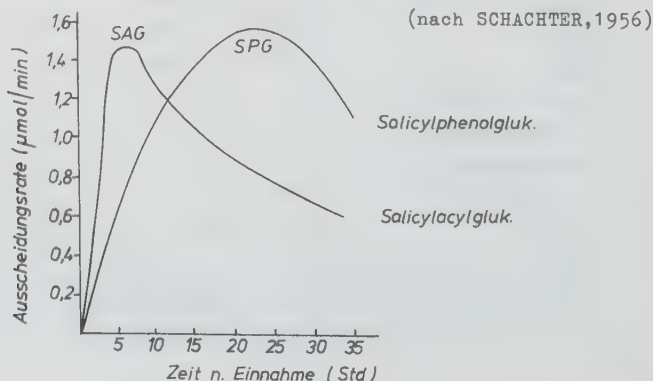
₁ SAG = Salicylacylglukuronid ; SPG $\neq$ Salicylphenolglukuronid

Die Salicylate werden langsam konjugiert. So beträgt z.B. die maximale Ausscheidung von Salicylurat, wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, annähernd 5 mol/min. QUICK (1931) und SCHACHTER (1956) erhielten nach Applikation einer vergleichbaren Menge Benzoats eine Hippuratausscheidung, die 100 mol/min. überstieg. Nach Verabreichung von p-Methoxybenzoat, so berichten SCHACHTER u. Mitarb. (unveröffentl.), stieg die Acylglukuronidausscheidung auf das 6-fache der Menge des Salicylacylglukuronids; nach Gabe von Salicylamid kann die Phenolglukuronidausscheidung auf das 20-fache der Ausscheidung des Salicylphenolglukuronids gesteigert werden. Das liegt nach HÄNNINEN und AITIO (1968) an einer Induktion der Aktivität der UDP-Glukose-Dehydrogenase und UDP-Glukuronyltransferase durch Salicylamid bzw. p-Methoxybenzoat.

Bei maximaler Ausscheidung der gesamten Salicylkonjugate, d.h. 2 bis 6 Stunden nach ihrer Einnahme, waren 64 % Salicylurat, 23 % Salicylacylglukuronid, 13 % Salicylphenolglukuronid im Urin. Diese Werte stimmen in etwa mit denen anderer Autoren (QUICK, 1933, KAPP und COBURN, 1942, SCHACHTER, 1956) überein.

Die Ausscheidungsrate der einzelnen Konjugate blieb annähernd proportional zu ihrem Plasmawert. Wie SCHACHTER (1956) berichtete und aus der nächsten Abbildung zu ersehen ist, wurde in den ersten Stunden nach der Salicylatabgabe hauptsächlich das Salicylacylglukuronid gebildet, während in den späteren Stunden das Salicylphenolglukuronid dominierte.

Abb. 22 : Ausscheidungsrate von Salicylacylglukuronid und Salicylphenolglukuronid im Urin nach Einnahme von Salicylat



Die Diurese mit Wasser, die den Urinstrom bis zu 12 ml/min ansteigen läßt, änderte nicht signifikant die Konjugatausscheidung. Auch nach oraler Gabe von 10 g Natriumbicarbonat, die den anfänglichen pH-Wert von 5,0 bis 6,2 auf einen Endwert von 7,6 bis 8,0 erhöhte, war die Ausscheidungsrate der konjugierten Salicylate nicht verändert. Im Gegenteil: das Bicarbonat steigert die Salicylatausscheidung von etwa 1,5 mMol/min auf 12 mMol/min. Daraus kann man den Schluß ziehen, daß das gesamte, zu irgendeiner Zeit ausgeschiedene Salicylat eine relativ gleichbleibende Menge an Salicylatkonjugaten und eine variable, pH-abhängige Menge an Salicylat einschließt.

d) Renale Clearance der Salicylkonjugate

Die renale Clearance von Salicylacylglukuroniden und "freien" Salicylphenolglukuroniden* übertrifft beträchtlich die endogene Kreatininclearance, wie sie in der nächsten Tabelle zu sehen ist.

Tabelle 20: Renale Clearance der endogen gebildeten Salicylkonjugate

Metaboliten	Plasmakonzentration Mol/l	Clearance perioden	Probanden	(nach SCHACHTER, MANIS, 1958)	
				renale Clear. ml/min	renale Clearance endog. Kreatininclearance
Salicylacylglukuronid	3,0-6,0	29	13	331 ± 70	3,3 ± 0,8
Salicylphenolglukuronid	10,0-15,0	22	12	73 ± 22	0,7 ± 0,2
"freies" Salicylphenolgluk.*	2,0-3,0	22	12	384 ± 145	3,9 ± 1,0

*nicht proteingebundenes Salicylphenolglukuronid

Glomeruläre Filtration und tubuläre Sekretion scheinen die hauptsächlichen Mechanismen für die Ausscheidung dieser Verbindungen zu sein (SCHACHTER, 1958). Die Clearance der Salicylkonjugate übersteigt nicht den renalen Plasmastrom, wenn man letzteren aus der endogenen Kreatininclearance berechnet und einen normalen Wert (0,19) als Bruchteil der Filtration zugrunde legt (SMITH, 1951). Deshalb konnte man keinen Beweis für eine renale Synthese der

Konjugate erhalten.

Den Einfluß von Probenecid auf die Salicylkonjugatclearance wurde bei sechs Versuchspersonen untersucht (SCHACHTER). Nach 2 Kontroll-experimenten gab man ihnen 2,0 g Probenecid und die Wirkung wurde über einen Zeitraum von 5 Std. beobachtet. Probenecid als Inhibitor gewisser tubulärer Sekretionsmechanismen verminderte die Salicyl-acylglukuronid-Clearance mit 42-71% (Mittelwert: 57%). Ein gleichzeitiges Ansteigen des Plasmaspiegels dieses Metaboliten war zu verzeichnen. Die Salicylphenolclearance änderte sich weniger auffällig mit einem Absinken auf 42,43 und 46 % bei 3 Versuchspersonen und keinem signifikanten Unterschied bei drei weiteren.

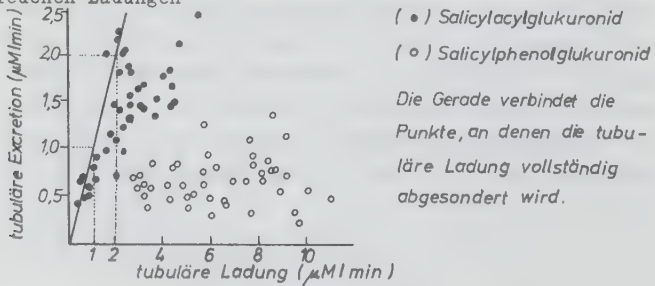
Die Plasmakonzentration der Salicylglukuronide beeinflusst augenscheinlich ihre renale Clearance. Das zeigen die folgenden Werte:

Plasmaspiegel	Clearancerate	Perioden	Probanden
1-3 $\mu\text{M/l}$	$502 \pm 84 \text{ ml/min}$	16	11
3-6 $\mu\text{M/l}$	$331 \pm 70 \text{ ml/min}$	29	13
6-12 $\mu\text{M/l}$	$254 \pm 27 \text{ ml/min}$	18	10

Ein ähnlicher, aber weniger deutlicher Trend wurde für die Salicylphenolglukuronid-Clearance vermerkt.

Die Belastung der renalen Tubuli mit Salicylacylglukuronid und Salicylphenolglukuronid ($\mu\text{Mol/min}$) und die Sekretionsraten der Glukuronide hat SCHACHTER mit Hilfe einer konventionellen Methode (nach SMITH) berechnet; sie sind in der folgenden Abbildung aufgezichnet.

Abb.23: Tubuläre Sekretionsraten von Salicylglukuroniden bei verschiedenen Ladungen



Bei vergleichbaren Ladungen übertrifft die Salicylacylglukuronid-Sekretion beträchtlich die der Salicylphenolglukuronid-Sekretion und mit Ladungen weniger als $1,0 \mu\text{Mol/min.}$ war die Sekretion der Salicylacylglukuronide im wesentlichen vollständig. Die immer vollständiger verlaufende Sekretion beider Glukuronide bei höheren Belastungen läßt an eine Begrenzung der Kapazität der Tubuli, die diese Verbindungen transportieren, denken.

Variationen im Urinstrom von $1-12 \text{ ml/min.}$, oder im Urin-pH-Wert von 6 auf 8 beeinflussen die Clearance der Salicylkonjugate nicht deutlich.

D) Ausscheidung der unveränderten Salicylsäure

a) Menge der Ausscheidung und ihre Abhängigkeit von Natriumbikarbonat

Der Anteil an unverändert ausgeschiedenem Salicylat im menschlichen Urin variiert zwischen 10 und 85 % der verabreichten Dosismenge der verschiedenen Salicylate (Salicylsäure, Acetylsalicylsäure, Natrium-salicylat), d.h. durchschnittlich findet man 50 % unverändertes Salicylat im Urin (ALPEN und Mitarb., 1951).

Eine Zunahme an freiem Salicylat erreicht man, wenn man gleichzeitig Natriumbikarbonat verabreicht, da der Serumsalicylatspiegel offensichtlich vermindert wird. BATTERMAN und SOMMER (1953) erhalten eine Steigerung von 48,6 % (ohne Natriumbikarbonat) auf 87,6 % (mit Natriumbikarbonat).

Natriumbikarbonat steigert die Urinausscheidung bei Kindern in einem solchen Ausmaß, daß der Blutspiegel 4 Stunden nach Verabreichung des Arzneimittels die Hälfte jener Menge ohne Natriumbikarbonat erreichte. Dies könnte im Falle einer Salicylatintoxikation zur Reduzierung des Plasmaspiegels führen. Doch ist andererseits Bikarbonat unerwünscht, da es eine eventuell bestehende respiratorische Alkalose noch verstärken würde.

Ein Ansteigen des Urin-pH-Werts von 5,2 auf 8,0 ergibt einen Anstieg der freien Salicylatausscheidung von 10 % auf 60 % der Gesamtausscheidung. Dies kann man den Werten von ALPEN und Mitarb. entnehmen:

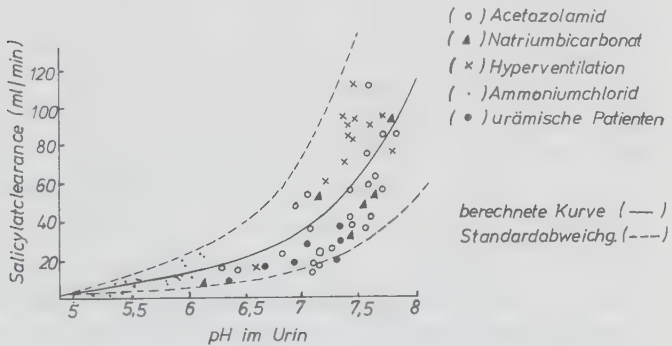
Versuchspersonen	pH-Wert d. Urin	Salicylsäure ‡
1	6,5	10
2	8,5	70
3	5,0	85
4	6,7	60

‡ % -Anteil des ausgeschiedenen Gesamtsalicylats

Dabei fällt auf, daß Patient 3 trotz pH 5,0 85 % freies Salicylat ausscheidet. Das könnte jedoch durch seine Krankheit bedingt sein, da dieser Patient unter anderem auch kein Salicylurat ausscheidet. GUTMAN, YÜ, SIROTA (1955) verglichen die Clearance des freien Salicylats mit der des Inulins und fanden für das Verhältnis $\text{Clearance}_{\text{sal}} / \text{Clearance}_{\text{inul}}$ in saurem Urin einen Wert, der beträchtlich unter eins lag, während der Wert bei einem pH von 7,5 größer als eins war.

MACPHERSON, MILNE, EVANS (1955) zeigen den Zusammenhang zwischen der freien Salicylatclearance und dem pH-Wert des Urin auf.

Abb.24 : Beziehung zwischen der freien Salicylatclearance und dem pH-Wert des Urins (nach MACPHERSON u. Mitarb.)



Die Ausscheidung des freien Salicylats steigt an, wenn der Urin entweder durch Bikarbonat, Acetazolamid oder durch Hyperventilation alkalisch gemacht wird. Bei pH 8,8 ist die Ausscheidung ungefähr 10 mal höher als bei pH 6,0.

b) Renaler Mechanismus der Ausscheidung

Die gemessene Ausscheidung der unveränderten Salicylsäure ist der Nettobetrag aus :

1. glomerulärer Filtration des Plasmawassers,
2. aktiver Sekretion der Substanz in den proximalen Tubuli,
3. passiver Reabsorption in den distalen Tubulusanteilen.

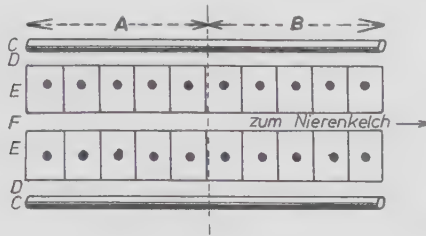
Wenn die passive Reabsorption die ersten beiden Prozesse übersteigt, dann findet sich keine Salicylsäure im Urin.

Bedeutende Faktoren, die die Reabsorption beeinflussen, sind einmal der pH-Wert des Urins und zum andern die Strömungsgeschwindigkeit des Plasmas durch die Nierenkanälchen. Die treibende Kraft für die Reabsorption ist die Differenz zwischen der Konzentration der nicht-ionisierten Substanz in der Flüssigkeit im Lumen der Tubuli und jener in den peritubulären Gefäßen. Wenn der Urin-pH-Wert von 5,0 auf 8,0 steigt, nimmt das Verhältnis (und deshalb auch die Konzentration) der nicht-ionisierten Säure ab. Dieser Anstieg des pH-Werts vermindert so die Reabsorption und verursacht eine Zunahme der Salicylatausscheidung im Urin (ROWLAND, 1969).

Tatsächlich haben MACPHERSON und Mitarb. (1955) zeigen können, daß bei einem pH unter 6,0 die Salicylsäure fast völlig reabsorbiert wird, während ein Wechsel von nur einer pH-Einheit (von 7 auf 8) die Exkretionsrate verfünffacht.

Die allgemeine Theorie der Glomerulum-Filtration und tubulären Reabsorption wird von MACPHERSON und Mitarb. nicht akzeptiert. Sie glauben vielmehr, daß die Ergebnisse ihrer Arbeit eher für eine Theorie sprechen, die besagt, daß das freie Salicylat mithilfe eines tubulären Diffusionsprozesses der undissoziierten Salicylatmoleküle ausgeschieden wird. Diese Theorie hat erstmals BERLINER (1954) formuliert und sie ist von MACPHERSON und Mitarb. modifiziert worden. Einige Einzelheiten dieser Diffusionstheorie können unter Zuhilfenahme der folgenden Skizze leichter erklärt werden.

Abb. 25 : Längsschnitt durch einen distalen Tubulus
(vereinfacht nach MACPHERSON)



Erklärungen zur Abb. 25 : im mehr proximal gelegenen Teil A, für den pH-Wert des Urins verantwortlich, ist der Tubulus für undissoziierte Moleküle durchlässig, aber undurchlässig für Ionen. Im distalen gelegenen Abschnitt B, der die Menge des Urinstroms bestimmt, ist der Tubulus sowohl für ionisierte als auch für nicht-ionisierte Anteile fast völlig undurchlässig. Zwischen den Kapillaren C und den Tubuluszellen E befindet sich die peritubuläre Flüssigkeit D, während F das tubuläre Lumen darstellt. Die Diffusion der undissoziierten Salicylatmoleküle aus der peritubulären Flüssigkeit D in das tubuläre Lumen F durch die Tubuluszellen E erklärt den merklichen Einfluß der Urin-pH-Werts auf die Salicylatausscheidung.

MACPHERSON und Mitarb. betrachten nur den distalen Tubulus, da ihre physiko-chemische Erklärung eine Teilnahme des Glomerulum und des proximalen Tubulus am Ausscheidungsprozeß ausschließt.

Ein einzelner distaler Tubulus wird durch die Tubuluzellen E verkörpert, die das tubuläre Lumen F bilden. Der Tubulus ist von der peritubulären Flüssigkeit umgeben, die einem chemischen Gleichgewicht mit dem Ultrafiltrat des Blutes, das in die Arteriolen und Kapillaren C fließt, zustrebt. Es muß angenommen werden, daß sich der Tubulus in zwei Abschnitte mit ganz verschiedenen Eigenschaften und Funktionen gliedert, einen proximaleren Anteil A und ein distaleres Teilstück B. Der erstgenannte Teil A kommt für die Einstellung des pH-Wertes im Urin in Betracht mit entsprechendem Austausch von Wasserstoff- und Ammoniumionen durch Natriumionen in der tubulären Flüssigkeit, gemäß der systematischen Säure - Basen - Balance.

Die Zellmembran ist selektiv durchlässig für Salicylationen inso-

weit, als der undissoziierte Teil frei durch die Membran treten, der Ionenanteil aber diese Barriere nicht passieren kann.

Der Abschnitt B des Tubulus besorgt die selektive Reabsorption von Wasser und bestimmt schließlich die Rate des Urinstroms. Die Zellmembran ist hier für Salicylatmoleküle fast völlig undurchlässig, ganz gleich ob sie nun dissoziiert sind oder nicht. Die Möglichkeit, daß sich die einzelnen Funktionen überschneiden oder daß sich allmählich und fortschreitend die Zelleigenschaften ändern, ist nicht auszuschließen. DARMADY (1954) glaubt histo-pathologisch gesichert zu haben, daß dieser letzte Teil B des Nephrons mehr im sammelnden Tubulus als in dem eigentlichen distalen Tubulus gelegen sei. Undissoziierte Salicylatmoleküle diffundieren frei aus der peritubulären Flüssigkeit D in die distalen tubulären Zellen E und schließlich von da in die Flüssigkeit des tubulären Lumens F. Das Verhältnis von dissoziierten zu undissoziierten Molekülen wird durch die Henderson-Hasselbach'sche Gleichung bestimmt:

$$\text{pH} - \text{pK}_a = \log \frac{(\text{dissoziierte Moleküle})}{(\text{undissoziierte Moleküle})}$$

Wenn Salicylatmoleküle in stark alkalischen Urin diffundieren, so wird ein größerer Teil der Moleküle ionisiert und deshalb muß mehr Salicylat vom peritubulären Raum in das tubuläre Lumen wandern, bevor das Gleichgewicht mit dem nicht-ionisierten Anteil erreicht ist. Das hat eine erhöhte Salicylatausscheidung in alkalischem Urin zur Folge. Die Tatsache, daß der pH-Wert des Urins die Salicylatausscheidung bestimmt als die definitive Salicylatkonzentration im Urin beweist die fast völlige Undurchlässigkeit des distalen Teils B des Nephron für Salicylatmoleküle.

Der geringe Einfluß des Urinstroms während der Wasser-Diurese zeigt jedoch, daß eine minimale Diffusion in dieses Segment des Nephrons möglich ist.

Das Verhältnis ionisierte Moleküle / nicht-ionisierte Moleküle kann als direkt proportional der freien Salicylat-Clearance angesehen werden.

Die Konzentration des undissoziierten Serumanteils und der peritubulären Flüssigkeit muß mit dem nicht an Protein gebundenen Serumsalicylat variieren, da der pH-Wert des Blutes konstant ist. Versuchsergebnisse bei uraemischen Patienten unterstützen die Diffusionstheorie. Sie zeigen, daß die Salicylatausscheidung (per diffusionem) fast normal ist trotz der enormen Reduzierung der Glomerulumfiltration. Die Salicylatausscheidung bei extremen renalen Versagen wird offenbar durch den renalen Blutstrom eingeschränkt. Die Niere kann eine Substanz nicht mit einer größeren Rate ausscheiden als die, mit der die Substanz auf dem Blutweg herantransportiert wird.

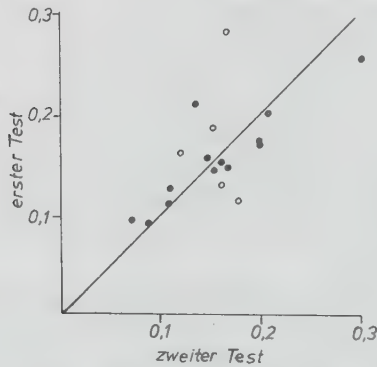
Ein ähnliches Prinzip ist von CLARKE, EVANS, MCINTYRE und MILNE (1955) für die Urinausscheidung des Ammoniaks gezeigt worden. BATTERMANN und SOMMER (1953) nehmen für die Ausscheidung der Gichtsäure ebenfalls einen Diffusionsmechanismus als wahrscheinlich an.

c) Variation der Salicylatausscheidung beim Menschen

LEVY und HOLLISTER (1964) untersuchten für eine Gruppe von Versuchspersonen (7 Männer und 10 Frauen im Alter von 23 bis 53 Jahren und einem Körpergewicht von 52-96 kg) die intersubjektive und intrasubjektive Variationsbreite der Salicylatausscheidung. Sie verabreichten 1 g Aspirin (3 mal 0,33g-Tabletten), bestimmten colorimetrisch (nach TRINDER, 1954) die Plasmakonzentration nach 2, 4, 6, 8 und 10 Stunden und wiederholten den Test nach einer Woche.

Da die individuellen Plasmasalicylatkonzentrationen theoretisch exponentiell abfallen, bestimmten LEVY und Mitarb. aus diesen Daten die individuellen Eliminationskonstanten erster Ordnung. Bei 12 Versuchspersonen differierten die Testergebnisse (Eliminationskonstanten) weniger als 20 % für jede einzelne Person, während ein größerer Unterschied bei den restlichen 5 Personen gefunden wurde. Das folgende Diagramm zeigt die intraindividuelle Variationsbreite der Eliminationskonstanten der Salicylate.

Abb.26 : Konstanten individueller Eliminationsraten, zweimal bestimmt bei 17 Erwachsenen im Abstand von einer Woche
(nach LEVY u. HOLLISTER, 1964)



(•) Konstanten, die sich bei zwei Versuchsreihen weniger als 20 % unterscheiden

(o) Konstanten, die sich bei zwei Versuchsreihen um mehr als 20 % unterscheiden

Auf der Geraden (Steigung 1,0) müßten alle Punkte zu liegen kommen, wenn die Korrelation zwischen den beiden Testreihen vollkommen wäre.

In der anschließenden Tabelle sind die Eliminationskonstanten der 12 Versuchspersonen zusammengestellt, die annähernd reproduzierbare Werte zeigten. Die Durchschnittswerte und Streuungsbreite der Konstanten wurden für männliche und weibliche Versuchspersonen berechnet.

Tabelle 21 : Konstanten der Eliminationsraten für Salicylate beim Menschen*
(nach LEVY u. Mitarb., 1964)

Zahl der Versuchspers.	Geschlecht	Konst. d. Elimin.raten §	
		harm.Mittel	Zahlenbreite
4	männlich	0,160	0,148-0,201
8	weiblich	0,130	0,082-0,274
12	männ.+weib.	0,138	0,082-0,274

* bestimmt n. oraler Gabe v. 1 g Aspirin aus d. Plasmaspiegel
Die Werte d. Konst. sind Durchschnittswerte zweier Versuche/Person
§ in Std., d.h. Konst. ist der Bruchteil d. Substanz, der pro Std. aus dem Körper eliminiert wird

Es zeigte sich keine auffällige Differenz in den Eliminationsraten zwischen den Geschlechtern und keine augenscheinliche Korrelation zwischen Eliminationsraten und Gewicht oder Alter. Der Aussagewert über die Signifikanz dieser Ergebnisse ist durch die geringe Anzahl der Versuchspersonen eingeschränkt.

Die deutliche intersubjektive Variation der Salicylatausscheidung ist allerdings sehr signifikant. Die Werte, die durch die biologische Halbwertszeit (das ist die Zeit, die notwendig ist, um den Gehalt einer Substanz im Körper um 50 % zu reduzieren) ausgedrückt werden, variieren von 2,55 Std. bis 8,5 Std. Wahrscheinlich wäre bei einer größeren Anzahl von Versuchspersonen die Unterschiede in den Salicylatausscheidungsraten noch erheblicher gewesen.

BRODIE und Mitarb. (1959) berichten über eine durchschnittliche Halbwertszeit von 6,1 Std. und einer Streubreite von 4,7 bis 9 Std. bei 6 Personen, denen 1,3g Salicylsäure intravenös verabreicht wurde. Obwohl nur Ergebnisse einer Versuchsreihe vorlagen und mögliche Nebeneffekte durch einen relativ hohen pH-Wert im Urin nicht ausgeschlossen waren, stimmen die angegebenen Werte ungefähr mit den von LEVY und Mitarb. gefundenen überein.

EVANS (1961) hat bei 100 Personen Serumsalicylatkonzentrationen (3 Std. nach Verabreichung der Substanz) gemessen, um zu untersuchen, ob eine genetisch bedingte Variante ("Polymorphismus") für die unterschiedliche Salicylatelimination verantwortlich ist. Seine Studien zeigten zwar auffallende intersubjektiv verschiedene Serumsalicylat Spiegel, die aber nicht ausschließlich auf eine Variation der Ausscheidung zurückzuführen sind. Sie können, ganz oder teilweise die Folge individueller Unterschiede in den Absorptionsraten (NELSON, 1963) oder in den Verteilungsvolumina sein.

Die Salicylatexkretion nach Einnahme von toxischen Mengen findet signifikant langsamer statt als nach Verabreichung therapeutischer Dosen (30-40 mg/100 ml). Das scheint beim Menschen an einer unterschiedlich verminderten Biotransformationsrate (d.h. in einer individuellen Konjugationskapazität) zu liegen (DONE, 1960 und LEVY, 1964). BURNS (1964) stellte bei Tierexperimenten fest, daß eine

Salicylatverabreichung über eine längere Zeitdauer keinen Einfluß auf die Kinetik der Ausscheidung hat (zit. n. LEVY, HOLLISTER, 1964).

d) Im Tagesverlauf auftretender Rhythmus der Salicylatausscheidung

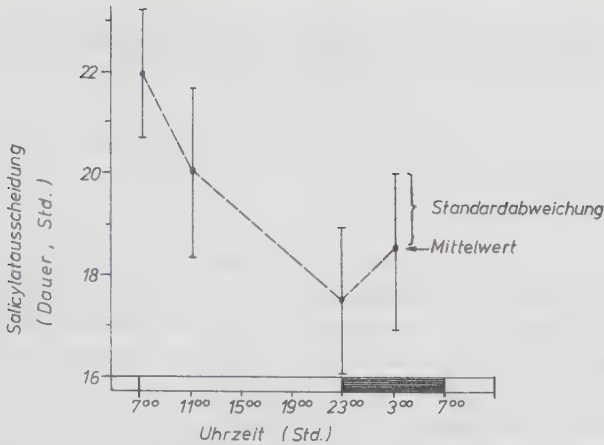
Die Ausscheidung der Salicylate wird nicht nur vom pH-Wert des Urins bestimmt. Corticosteroide modifizieren ebenfalls die Salicylat-Clearance. KLINENBERG, MILLER (1965) fanden eine Erhöhung der renalen Clearance der Salicylate nach Verabreichung von Corticosteroiden bei 3 von 5 Versuchspersonen. Da sowohl der Urin-pH als auch der Plasmahydrocorticoidspiegel während des Tags Schwankungen unterliegt, überrascht es nicht, daß REINBERG, ZAGULA-MALLY, GHATA und HALBERG (1967) über einen zirkulären Rhythmus in der Dauer der Salicylatausscheidung berichten.

Sie verabreichten 6 jungen, gesunden Personen 1 g Natriumsalicylat. Die Versuchspersonen sollten eine durchschnittliche Schlafdauer von 23 Uhr abends bis 7 Uhr am Morgen erreichen. Die Substanz wurde zu 4 verschiedenen Zeiten gegeben (7 Uhr, 11 Uhr, 19 Uhr, 23 Uhr). Nach Verabreichung des Natriumsalicylats wurde der Urin in 4-stündigem Intervall 48 Std. lang gesammelt. Der Versuch fand im Abstand einer Woche nochmals statt.

Die durchschnittliche Dauer der Salicylatausscheidung hängt vom Zeitpunkt ihrer Verabreichung ab, wie die nächste Abbildung zeigt.

Abb.27: Ausscheidungsdauer der Salicylate in Abhängigkeit vom Zeitpunkt ihrer Verabreichung; die Werte wurden mit einem Computer nach der COSINOR-Methode berechnet.

(Abbildung nächste Seite)



Die mittlere Ausscheidungsdauer nach um 7 Uhr morgens gegebenem Salicylat betrug 22 Std., wurde die Substanz um 23 Uhr abends verabreicht, so verkürzte sich die Ausscheidungsdauer auf 17,5 Std. Das heißt, daß die Ausscheidungsdauer während der ersten 4 Stunden nach der 23 Uhr Dosis höher war als nach der 7 Uhr Dosis. Mit Hilfe mathematisch-analytischer Methoden berechnete man, daß die Dauer der Salicylatausscheidung dann am längsten sei, wenn die Substanz um 6⁴¹ Uhr morgens verabreicht würde.

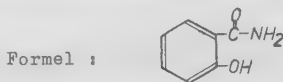
REINBERG und Mitarb. berichten leider nicht über Schwankungen des pH-Werts im Urin während des Tags oder der Nacht; sie hätten auf die Ergebnisse der Untersuchungen Einfluß nehmen können.

Die Untersuchungen lassen außerdem nicht vermuten, daß zwischen dem sich zirkulär ändernden Plasmahydroxycortisonspiegel und dem Salicylatausscheidungswerten ein Zusammenhang besteht, da die höchsten Hydroxycortisonspiegel im Plasma zwischen 6 und 9 Uhr morgens vorgefunden wurden, die niedrigsten um Mitternacht (MILLS, 1966)

Wäre der Plasmaspiegel des Hydrocortisons primär für die Clearance-rate der Salicylate verantwortlich, so müßte die Ausscheidungsrate zwischen 6 und 9 Uhr am größten und gegen 24 Uhr am niedrigsten sein. Geradezu umgekehrte Zeitpunkte für maximale bzw. minimale Ausscheidung hatten REINBERG und Mitarb., 1967, für Salicylsäure ermittelt.

III. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN STOFFWECHSEL DES SALICYLAMIDS

1. Chemische Eigenschaften des Salicylamids



Salicylamid (o-Hydroxybenzamid) ist ein geschmackloses, weißkristallines Pulver, in Wasser mehr löslich als Salicylsäure, gut lipoidlöslich, pKa 8,2 bei 37°C. Das Arzneimittel wird von Menschen sehr gut toleriert; seine Reaktion ist milde; manche Autoren schreiben ihm eine ungenügende analgetische und antipyretische Wirkung zu. Schließlich wird Salicylamid im Menschen nicht zu Salicylat hydrolysiert, so daß seine pharmakologische Wirkung dem Salicylamidmolekül eigen ist und nicht der Umwandlung in Salicylat zugeschrieben werden darf (MANDEL und Mitarb., 1952).

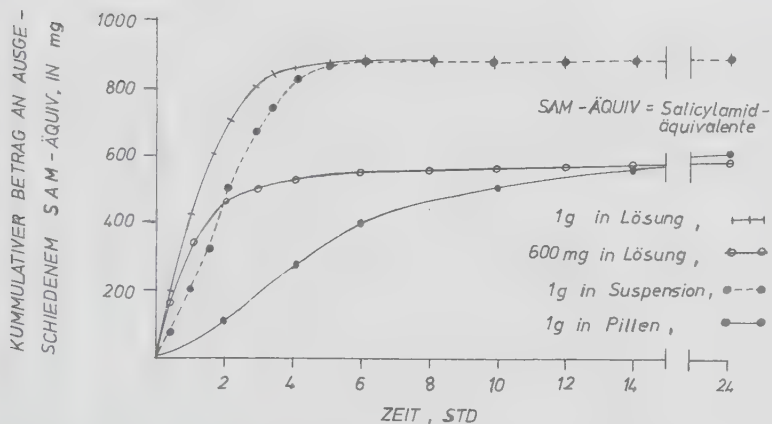
2. Absorptionsverhalten des Salicylamids

SEEBERG und Mitarb. (1950) studierten die Absorption und Verteilung des Salicylamids und fanden, daß das Medikament schnell absorbiert wird. Infolge der raschen Diffusion in die Körpergewebe blieb der Plasmaspiegel niedrig. DAVISON und Mitarb. (1961) stellten folgendes fest: verabreicht man Salicylamid einem normalen, gesunden Menschen oral, so wird es so schnell absorbiert und ausgeschieden, daß kein hoher Plasmaspiegel erreicht wird. Salicylamid diffundiert schnell in die verschiedenen Körpergewebe und in einem augenscheinlich viel größerem Ausmaß ins Körperwasser als dies die Salicylate tun. Tierstudien zeigen, daß einiges Salicylamid rasch ins Gehirn diffundiert, so daß die initiale Hirnkonzentration viel höher liegt als jene mit Salicylat. Ähnlich dem Salicylat werden in der Hypophyse relativ hohe Mengen gefunden. Daß es bei der Absorption natürlich auch auf die verschiedenen Aggregatzustände und Oberflächengröße des zu applizierenden Salicylamids ankommt, ersieht man an den ausgeschiedenen Substanzen Salicylamidsulfat und Salicylamid-Glukuronsäure;

LEVY und MATSUZAWA (1966) bemerkten eine erhebliche Differenz der Salicylamidsulfatexcretion, als Salicylamid in schnell und sehr langsam absorbierbarer Form verabreicht worden war . Die nun folgende Fi -

gür zeigt den kumulativen Betrag der Salicylamidmetaboliten, aus-
geschieden als Funktion der Zeit nach oraler Verabreichung dieser
Substanz in Lösung, Suspension und Pillen.

Abb. 28: Effekt der Dosisform auf die kumulative Urinausscheidung
der Salicylamidmetaboliten (nach LEVY u. MATSUZAWA, 1966)



Die Absorption der Pillen war so langsam, daß man meinte, sie sei unvollständig gewesen infolge der verminderten wirksamen Oberfläche, der Dosisform und der relativ niedrigen inneren Auflösungsrate des Salicylamids. Das Salicylamidsulfat wurde zu 73 % des gesamten Betrags der Salicylamidmetaboliten aus dem Urin erhalten. Dagegen betrug der Salicylamidsulfatausstoß einer vergleichbaren Dosis, in Lösung verabreicht, nur 32 %. Weitere bestätigende Ergebnisse wurden bei 3 anderen Versuchspersonen erhalten. Sie sind in der nächsten Tabelle aufgezzeichnet.

Tabelle 22: Effekt der Absorptionsrate auf die Salicylamid-
sulfat-Bildung (nach LEVY u. Mitarb.)

(Tabelle siehe nächste Seite)

Tabelle 22: Wirkung der Absorptionsrate auf die Salicylamidsulfat - Bildung
(nach LEVY und Mitarb., 1966)

Proband	Geschlecht	Alter	PILLEN			LÖSUNG		
			Dosis	ausgesch. Menge ₁	Prozent ausgesch. als Sulfat ₂	Dosis	ausgesch. Betrag ₁	Prozent ausgesch. als Sulfat ₂
			Jahre			mg	mg	%
A	männlich	34	1000	624	73,0	600	576	31,8
B	männlich	25	1000	444	78,4	420	351	26,5
C	männlich	25	1000	460	73,1	460	425	37,5

)₁ Gesamtbetrag aller ausgeschiedenen Salicylamidmetaboliten

)₂ Sulfatanteil am Gesamtbetrag von Salicylamid (ausgeschieden in allen vorkommenden Stoffwechselprodukten)

3. Bindung und Konzentration des Salicylamids im Blut

Durch die Nieren wird Salicylamid viel schneller ausgeschieden als Salicylat, vielleicht weil es zu einem viel geringeren Teil an Serumproteine gebunden ist als die Salicylate. Der Peak im Plasmaspiegel nach oraler Gabe ist nur $1/5$ bis $1/8$ so hoch wie jener, welcher vergleichbaren Mengen an Salicylaten entspricht. Das wird verständlich durch die Untersuchungen, die DAVISON und SMITH (1961) durchführten. Sie erforschten die Bindung einer Reihe von einfachen Derivaten der Benzoesäure an Rinderserumalbumin. Substanzen wie Salicylsäure und Resorcylsäure zeigen eine umfassende Bindung, während zum Beispiel Phenol, Cyclohexanol und Salicylamid nur wenig oder gar keine Wechselwirkung aufweisen. Dies geht auch aus Tabelle 23 hervor.

Tabelle 23 : Bindung von verschiedenen Benzolderivaten an $0,1 \text{ mMol}$ Rinderserumalbumin (nach DAVISON u. Mitarb., 1961)

Verbindung	Name	pK	% gebunden		$K_1 \cdot 10^{-3}$	n_1^+	$K_2 \cdot 10^{-2}$	n_2^+
			$2,67 \text{ mM}$	$0,083 \text{ mM}$				
			Substanz					
2-Monohydroxybenzoat	Salicylat	2,97	9	46	30	0,37	8,0	3,5
2,6 Dihydroxybenzoat	γ -Resorcylat	1,28	12	64	16	1,44	1,5	9,3
2-Hydroxybenzamid	Salicylamid	8,20	3	4	-	-	1,3	3,3
Phenol	Karbonsäure	9,86	----- zu vernachlässigen -----					
Cyclohexanol			----- zu vernachlässigen -----					

* = Assoziationskonstante

+ = Anzahl der Bindungsorte

Phenol und Cyclohexanol sind nicht nennenswert gebunden; das weist auf die hervorragende Bedeutung der Carboxylgruppe hin. Sie wird weiterhin betont durch die Beobachtung, daß Salicylamid, bei dem der Substituent durch die NH_2 -Gruppe maskiert ist, nur spärlich

gebunden ist. Da o-Hydroxyverbindungen (pH weniger als 3,3), wie z.B. die Salicylsäure, stärker gebunden werden, als meta- und para-Hydroxygruppen (KLOTZ, 1946 und BURKARD, 1953), wird es als möglich erachtet, daß Substanzen mit pH-Werten größer als 4 einige Prozent weniger ionisiert sein könnten und folglich weniger gebunden sind. Salicylamid hat zwar eine o-Hydroxygruppe, diese kann jedoch ihre Wirkung im Sinne einer Verstärkung der Dissoziation (und damit einem niedrigeren pH-Wert) von Proteinen nicht ausüben, da statt der Karboxylgruppe eine Karbamingruppe vorhanden ist. Da Humanalbumin im wesentlichen dieselbe Zusammensetzung wie Rinderalbumin hat (57 ϵ -Amino-, 22-Guanidino- und eine endständige Amino-
gruppe), darf man die Ergebnisse auf den Menschen übertragen. Es gibt also eine direkte Beziehung zwischen dem Grad an Proteinbindung und der biologischen Halbwertszeit der untersuchten Substanzen, d.h. die schnelle Ausscheidung von Salicylamid korreliert gut mit seiner geringfügigen Bindung im Gegensatz zur längeren Halbwertszeit der Salicylsäure (DAVISON, SMITH, 1961).

4. Bildung und Ausscheidung der Salicylamidmetaboliten Salicylamidsulfat, Salicylamidglukuronid und Gentisamid

A) Veränderung des Salicylamids beim erwachsenen Menschen und beim Kleinkind

Einem Rückblick in der Literatur ist zu entnehmen, daß Salicylamid im Menschen hauptsächlich durch Biotransformation als Ätherglukuronid und Estersulfat eliminiert wird. Möglicherweise findet auch eine renale Ausscheidung von unverändertem Salicylamid (weniger als 1 % der verabreichten Dosis) oder Bildung von Gentisamid statt. Es finden sich jedoch merkbare Unterschiede in den bisher veröffentlichten Berichten über das Schicksal des Salicylamids im menschlichen Körper. In sehr frühen Schriften blieben die Stoffwechselprodukte des Salicylamid unidentifiziert (SMITH und Mitarb., 1946, ALPEN u. Mitarb., 1951).

MANDEL , RODWELL und SMITH stellten 1952 Versuche an, um die Stoffwechselprodukte dieser Substanz zu bestimmen und um sich Klarheit zu verschaffen, ob ein genügend großer Teil des Salicylamids im Menschen in Salicylat umgewandelt wird, was immerhin die Wirkung als analgetisches und antirheumatisches Mittel erklärt hätte.

MANDEL u. Mitarb. (1952) verwendeten radioaktiv markierten Kohlenstoff, der in die Karbonylgruppe eingebaut wurde. Als Versuchspersonen wurden drei Patienten mit fortgeschrittenen Cervixkarzinomen ausgewählt, deren Leberfunktion durch klinische Tests als normal befunden worden war. Als Hauptmetabolit im Urin identifizierten sie nach oraler Applikation von 300 mg Salicylamid ein Glukuronid des Salicylamids vom Äthertypus, das zu 80 % vorkam. Sie konnten zwar eine geringe Menge des Estersulfats bestimmen, glaubten aber, wenn überhaupt Salicylamid als Estersulfat ausgeschieden würde, so dürfte diese Art der Konjugation eine verschwindend geringe Rolle spielen.

FOYE u. Mitarb. (1959) fanden, daß von ihren untersuchten "steinbildenden" Patienten 40% Salicylurat ausgeschieden hatten. Zur Übersicht eine Tabelle über das metabolische Schicksal des Salicylamids im Menschen, wie es von den bisher beschriebenen Autoren gesehen wurde.

Tabelle 24 : Stoffwechselprodukte des Salicylamids im Körper des Menschen (nach LEVY, MATSUZAWA, 1966)

Autoren	Jahr	Dosis in g	im Urin gefundene Substanzen ₁					Art der Probanden
			SAM	SAMG	SAMS	GAMG	andere	
LITTER u.M.	1951	unbestimmt	24%	39%	36%			gesunde Erw.
BECHER u.M.	1952	3,0 - 3,5	0	+	+	18-28%		ges. Erwachsene
MANDEL u.M.	1952	0,3	SPUR	80%	SPUR			Cervix - Ca
FOYE u. M.	1959	2,0 - 3,6	+	46 %	31%	0	Salicylur- säure	"Stein - bildner "
KAKEMI u.M.	1962	1,0	0,9%	60% ₂	+			ges. Erw.
TAKETA	1962	0,1 - 2,0	0	26 - 70%	+			ges. Erw.

- 1 = SAM : Salicylamid SAMG : Salicylamid - Glukuronid
 SAMS : Salicylamidsulfat GAMG : Gentisamid - Glukuronid
 2 = aus der gesamten Glukuronidfraktion im Urin geschätzt

Bei all diesen verwirrenden Variationen an Stoffwechselprodukten des Salicylamids kristallisiert sich heraus, daß vor allem die verabreichte Dosis und Unterschiede in den einzelnen Tiergattungen eine Rolle spielen. LEVY und MATSUZAWA (1967) erstellten eine Studie, deren Ergebnisse vor allem Aufschluß über diejenigen Faktoren, welche die Stoffwechselverteilung und die Kinetik der Ausscheidung des Salicylamids modifizieren könnten, geben.

Salicylamid wurde oral an gesunde, männliche Erwachsene auf leeren nüchternen Magen verabreicht, als Lösung, Suspension und Tabletten (aus reiner Substanz). Die Versuchspersonen durften vier Stunden nach der Verabreichung nichts mehr essen, der Urin wurde bis zur 4. Stunde alle 30 min. und dann in beliebigen Zeitintervallen bis zur 24. Stunde gesammelt. 100 ml Wasser mußten nach jeder Urinsammlung getrunken werden, um eine adäquate Urinausscheidung zu sichern.

Zwei gesunde Kinder, ebenfalls mit nüchternen leeren Mägen, bekamen Salicylamid in Gingerale gelöst zu trinken. Der Urin wurde mit Hilfe eines Dauerkatheters zu unregelmäßigen Zeiten gesammelt. Die Kinder wurden außerdem häufig mit Wasser, Milch oder Säften gefüttert. Die verschiedenen Metaboliten hat man teilweise durch Extraktion, Hydrolyse (wo notwendig enzymatisch) und anschließender Spektrophotometrie bzw. Dünnschichtchromatographie bestimmt. Die orale Verabreichung von 0,15 g, 0,6 g und 1,0 g Salicylamid in gleicher Lösung bei fünf gesunden Erwachsenen ergab eine quantitativ fast vollständige Rückgewinnung der Substanz in Form ihrer konjugierten Stoffwechselprodukte.

Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse des Versuchs bei fünf erwachsenen Männern zwischen dem 23. und 38. Lebensjahr.

(Tabelle siehe nächste Seite)

Tabelle 25: Wirkung verschiedener Dosierungen von Salicylamid auf die Bildung von Salicylamidsulfat (nach LEVY u. Mitarb., 1966)

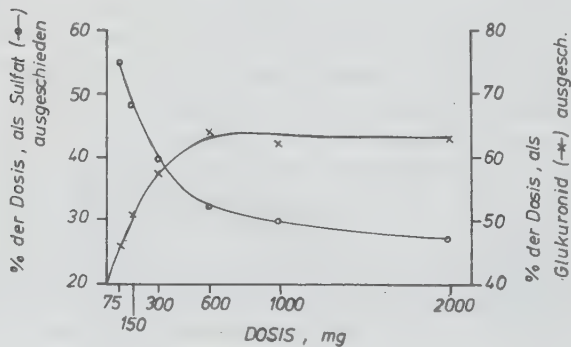
Proband	Ge- schlecht	Körper- gewicht	Alter	Aussch. nach 150mg*			Aussch. nach 600mg			Aussch. nach 1000mg		
				SAM Met.	SAMS	Max. Rate SAMS	SAM Met.	SAMS	Max. Rate SAMS	SAM Met.	SAMS	Max. Rate SAMS
		kg	Jahre	% mg/Std			% mg/Std ₂			% mg/Std		
				%	%	%	%	%	%	%	%	%
A	männlich	72	34	99	48,3	45,4	96	31,8	97,5	92	29,7	120,5
B	m.	82	38	101	53,6	43,1	95	32,6	84,3	97	27,1	108,7
C	m.	59	29	99	40,5	40,2	98	32,4	75,2	95	28,3	96,7
D	m.	84	25	98	64,5	48,3	92	37,4	101,1	96	40,0	238,5
E	m.	91	23	100	72,6	61,3	98	50,6	123,3	nicht getestet		

* Ausgedrückt in % der Dosismenge; SAM Met. = Salicylamidmetaboliten; SAMS = Salicylamidsulfat
)₁ Oral in Lösung verabreicht;)₂ Salicylamid-Äquivalent = Betrag, der in 30 Min ausgeschieden wird

Der Bruchteil der Dosis der ausgeschiedenen Salicylamidsulfatmengen nahm mit steigender Dosis ab. Das Maximum der Ausscheidungsrate des Salicylamidsulfats stieg nicht proportional der Größe der wachsenden Dosis an, sondern strebte einem begrenzenden Wert zu. Der Anteil, welcher nicht als Sulfat ausgeschieden wurde, war Salicylamidglukuronid. Versuchsperson D wurde in die Studie mit einbezogen, da er wegen seiner niedrigen Glukuronidbildungsfähigkeit in einer pharmakokinetischen Studie über Salicylatausscheidung beobachtet wurde und in der er aufgrund dieser geringen Glukuronid-Syntheseleistung als Versuchsperson D identifiziert werden konnte (LEVY, 1965 b).

Eine übersichtliche und detaillierte Beziehung zwischen der gegebenen Dosis und den ausgeschiedenen Stoffwechselprodukten zeigt die folgende Abbildung:

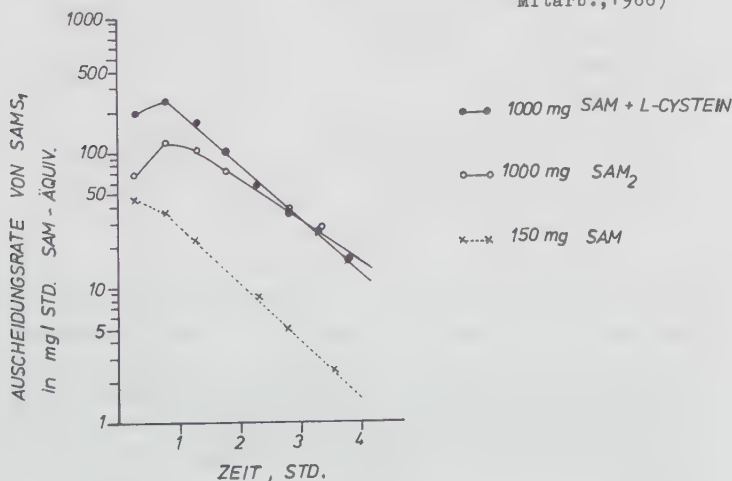
Abb.29: Ausscheidung der Stoffwechselprodukte Salicylamidsulfat und Salicylamidglukuronid in Abhängigkeit von der verabreichten Dosis (nach LEVY und Mitarb., 1965).



Der Bruchteil des ausgeschiedenen Sulfats nimmt von ungefähr 55% der Dosis auf 28% ab, wenn die Dosis an Salicylamid von 0,075g auf 2,0g erhöht wurde. Es besteht eine reziproke Beziehung zwischen den Dosisbruchteilen, die als Sulfat und die als Glukuronid ausgeschieden werden.

Ein begrenzender Faktor, der den Ausscheidungsprozeß des Salicylamids im Körper steuert, scheint die begrenzte Fähigkeit des Körpers zu sein, bei sehr hohen Dosierungen nur relativ langsam die Stoffwechselprodukte ausscheiden zu können. Ein weiterer Faktor dürfte die Tatsache sein, daß bei steigenden Dosen das Salicylamidsulfat einen Grenzwert erreicht, während das Salicylamidglukuronid offenbar zunimmt, ohne zunächst eindeutig eine obere Grenze anzuzeigen. Gibt man jedoch 2,0 g L-Cystein in stündlichen Intervallen, beginnend drei Stunden vor der Aufnahme von 1,0 g Salicylamid, so steigt z.B. bei Versuchsperson A die Salicylamidsulfatausscheidung von 29,7 % auf 48,1 %, bei Versuchsperson B von 27,1 % auf 51,6%. Die folgende Figur kennzeichnet den Einfluß der Gabe von L-Cystein auf die Versuchsperson A.

Abb.30 : Wirkung von zusätzlich verabreichtem L-Cystein auf die Urinausscheidung von Salicylamidsulfat (nach LEVY und Mitarb.,1966)



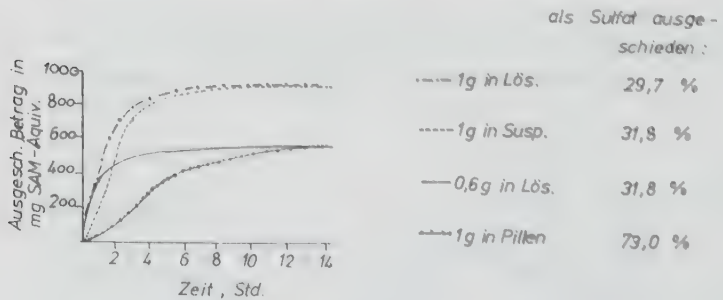
SAMS₁ = Salicylamidsulfat

SAM₂ = Salicylamid

Die Ausscheidungsrate des Salicylamidsulfats hat sich also fast verdoppelt und macht deutlich, daß sie offenbar vom Angebot an körpereigenem Sulfat abhängig ist. Sind die Reserven an natürlich vorhandenem Sulfat erschöpft, so kann dieser limitierende Faktor nur durch ein Angebot an Sulfat von außen überwunden werden. Wie das Versuchsergebnis bewies, stieg die Sulfatausscheidungsrate prompt an.

Die Abhängigkeit der Salicylamidsulfatausscheidung von den physikalischen Parametern Dosismenge und Dosisform wurde schon beim Absorptionsverhalten des Salicylamids berührt. Es soll durch die folgende Graphik nochmals verdeutlicht werden:

Abb. 31 : Effekt der Dosisform - und -menge auf die Salicylamidsulfat- Bildung (nach LEVY u. Mitarb., 1966)

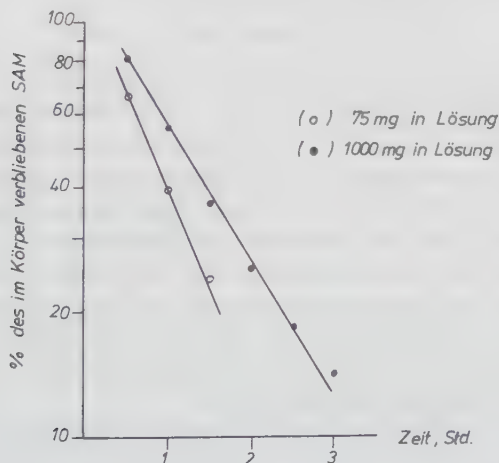


Hieraus ist ersichtlich, daß beim relativ langsamen Auflösungsvermögen der Pille (kleine Oberfläche, feste Form) eine Langzeitwirkung (Depot) eintritt, d.h. über eine relativ lange Zeit wird ein relativ niedriger Salicylamidspiegel abgebaut und zwar allermeist durch Konjugation mit Sulfat (73%), während die gleiche Menge bei Gabe in Lösung nur zu 32 % als Estersulfat abgebaut wird.

HARTIALA und Mitarb. (1963) zeigten, daß die Verabreichung von 3,0 g Salicylamid an Menschen die Konzentration der Salicylamid-

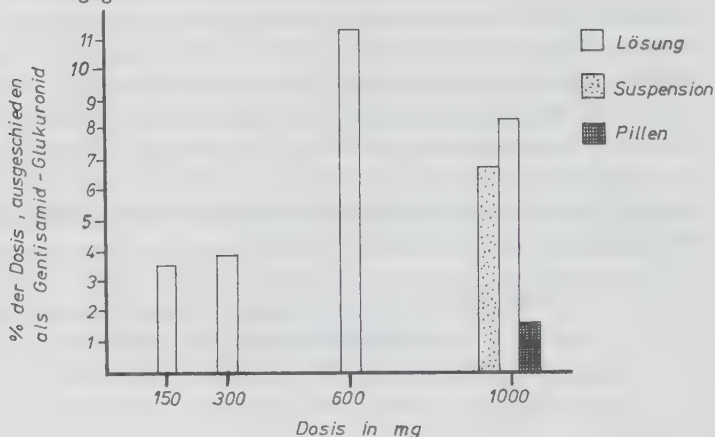
konjugate höhere Plasmaspiegel aufwiesen als jene des freien Salicylamids. Die Konzentration der Salicylamidkonjugate nahm außerdem langsamer ab als die der freien Substanz. Deshalb meinten diese Autoren, daß die Erscheinungsrate der Salicylamidmetaboliten im Urin nicht der Eliminationsrate (d.h. der Biotransformationsrate) des freien Salicylamids entspräche. Die folgende Abbildung ist nur zur Veranschaulichung semilogarithmisch dargeboten und soll nicht dazu verführen, die Ausscheidung des Salicylamids als einen kinetischen Prozeß erster Ordnung zu betrachten.

Abb. 32 : Der Einfluß der Dosen (75 mg u. 1000 mg) von Salicylamid auf die Ausscheidungsrate von Salicylamidmetaboliten (nach LEVY u. Mitarb., 1966)



Den Einfluß der Dosismenge und Dosisform des Salicylamids auf die Bildung von Gentisamid-Glukuronid, welches durch Dünnschichtchromatographie identifiziert werden konnte, zeigt die Abbildung 33 :

Abb. 33 : Bildung von Gentisamidglukuronid aus Salicylamid in Abhängigkeit von Dosisform und Dosismenge



Geringe, schnell absorbierte und hohe, langsam absorbierte Dosen ergaben weniger als 4 % Gentisamidglukuronid, während große, schnell absorbierbare Mengen ungefähr 10 % Gentisamid in Form des Glukuronidkonjugats brachten. LEVY und MATSUZAWA haben mit Hilfe der Dünnschichtchromographie eindeutig festgestellt, daß Salicylamid nur in konjugierter Form (als Glukuronid oder Sulfat) und als Gentisamidglukuronid ausgeschieden wird. Keine freie oder konjugierte Gentisinsäure, kein freies Gentisamid und kein Salicylurat konnten gefunden werden. Der Bruchteil der Dosis des Salicylamids, der als Gentisamidglukuronid ausgeschieden wurde, war immer klein und variierte mit der Dosismenge und -form.

Die orale Applikation von 20 mg Salicylamid (in Lösung) pro kg Körpergewicht an einem 5,2 Monate alten weiblichen Säugling und an ein 22 Monate altes männliches Kleinkind brachte eine fast vollständige Rückgewinnung der Substanz als Salicylamidsulfat, Salicylamidglukuronid und Gentisamidglukuronid (YAFFE u. Mitarb., 1966). Die genauen Werte sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

Tabelle 26 : Ausgeschiedene Stoffwechselprodukte des Salicylamids
bei Kindern (nach YAFFE u. Mitarb. 1966)

Proband	Alter	Ge- schlecht	Dosis*	Zurück- erhalt. Dosis	Salicylamidmetaboliten im Urin		
					SAMS	SAMG	GAMG
	Monate		mg	%		%	
1	5 1/2	weibl.	122	98,7	41,7	45,0	13,3
2	22	männl.	272	91,9	38,6	54,3	7,1

* 20 mg/kg Körpergewicht

SAMS = Salicylamidsulfat

SAMG = Salicylamid-Glukuronid

GAMG = Gentisamid-Glukuronid

Erstaunlich an diesen Ergebnissen ist, daß bei dem 5 1/2 Monate alten Kind die Glukuronidbildung und die Sulfatbildung sich die Waage halten. Das kann damit erklärt werden, daß das zur Glukuronidbildung benötigte Ferment Glukuronyl-Transferase als ein sog. "adaptives" Ferment erst einige Zeit nach der Geburt seine vollständige Aktivität erreicht (worauf u.a. auch der Ikterus neonatorum zurückzuführen ist.). Wenn das Ferment Glukuronyl-Transferase voll aktiv ist, zeigt sich deutlich ein Überwiegen der Ausscheidung von Salicylamidglukuronid gegenüber der Sulfatausscheidung bei dem 22 Monate alten Kleinkind (54,3 % Salicylamidglukuronid / 38,6 % Salicylamidsulfat).

B) Veränderung des Salicylamids im Körper verschiedener Tiere

MANDEL und Mitarb. vermerkten, daß u.a. WILLIAMS (1938) und BRAY (1949) von Sulfatkonjugationen bei Hunden und Kaninchen berichtet hatten (ohne allerdings diese Verbindungen nachgewiesen zu haben). Sie bezweifelten jedoch die Richtigkeit der Angaben dieser Autoren ebenso wie die Ausführungen von LITTER und Mitarb. (1951).

(LITTER berichtete immerhin ohne nähere Details, daß 36 % des verabreichten Salicylamids beim Menschen als Estersulfat ausgeschieden werden - dies konnten für hohe Dosen an Salicylamid FOYE und Mitarb. (1959) bestätigen).

BAAS (1890) und BRAY und Mitarb. (1949) berichteten u.a. , daß bei der Verfütterung von sehr großen Salicylamidmengen an Hunde und Kaninchen ein Teil davon als freie Salicylsäure, Salicylurat, Glukuronide des Äthertyps und Estersulfat ausgeschieden wurde. BRAY (1948) konnte außerdem eine Spur von Gentisamid aus Kaninchenurin isolieren, nachdem er eine sehr hohe Dosis Salicylamid an diese Tiere verfüttert hatte.

C) Untersuchungen über den biochemischen Mechanismus der Sulfatkonjugation

Ergebnisse der bisherigen Forschungen zeigen, daß der Mensch eine ziemlich begrenzte Fähigkeit zur Synthese von Salicylamidsulfat besitzt. Solch eine eingeschränkte Konjugationsfähigkeit mit Sulfaten ist von WILLIAMS (1959) bei einer Reihe von Tierarten, denen er sehr hohe Dosen verschiedenster Phenolabkömmlinge verabreichte, demonstriert worden. WILLIAMS (1959) zeigte weiterhin, daß die Bildungsrate von Phenolsulfat von der Konzentration des Sulfats am Ort der Synthese abhängig ist und daß die Syntheseleistung durch Gabe von Sulfat und Sulfatvorstufen erhöht werden kann.

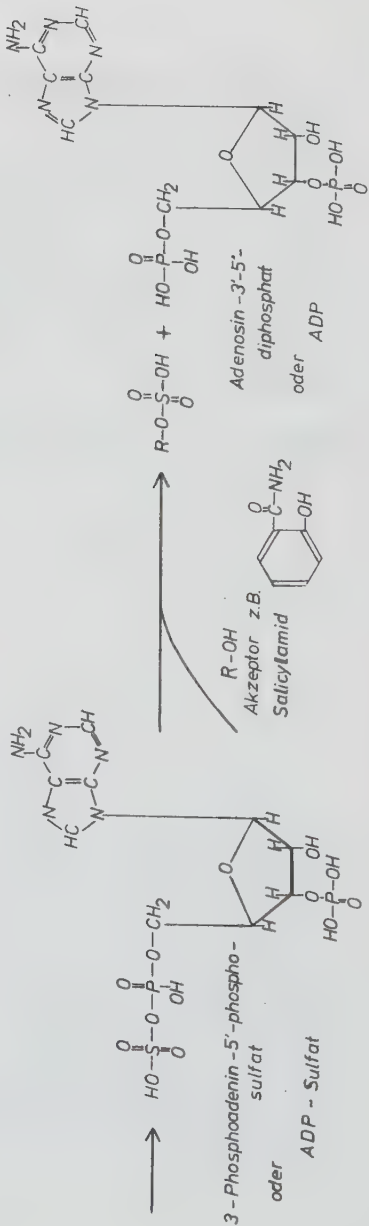
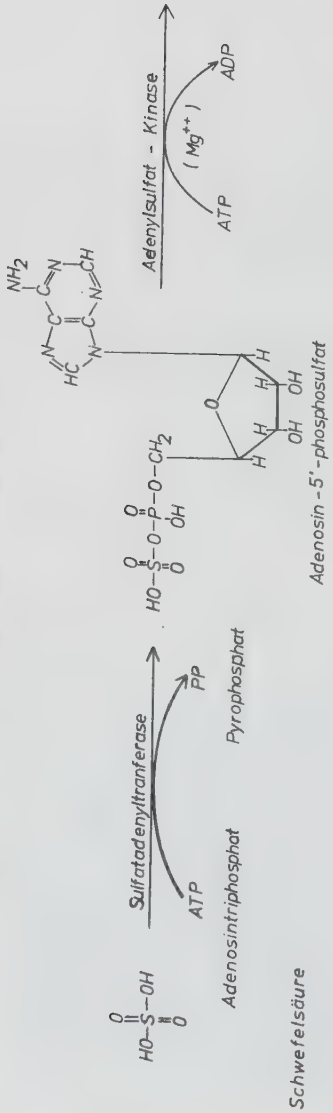
ROBBINS und LIPMANN (1957) untersuchten den Mechanismus der Sulfatbildung. Die Veresterung des Salicylamids dürfte dabei analog dem zu beschreibenden Entgiftungsmechanismus für Phenole erfolgen.

Die Konjugation geeigneter Substrate mit Schwefelsäure erfordert organisches Sulfat, Adenosintriphosphat und Sulfokinasen; sie verläuft beim Menschen über zwei Zwischenprodukte mit sogenanntem "aktivierten" Sulfat im Cytoplasma der Leber:

Zunächst bildet Adenosintriphosphat mit organischem Sulfat Adenosin-5-phosphosulfat. Die aktivierte Schwefelsäure wird nun mit Hilfe eines Enzyms (welches ebenfalls im Cytoplasma der Leber lokalisiert sein dürfte) auf ein Akzeptormolekül, d.h. auf die zu entgiftende Substanz, übertragen und als wasserlöslicher, nierengängiger Schwefelsäureester ausgeschieden.

Eine Übersicht über die Sulfatbildung im menschlichen Organismus gibt das folgende Reaktionsschema wieder:

SULFATBILDUNG IM MENSCHLICHEN ORGANISMUS



Die Verabreichung von Salicylamid am Menschen verursacht eine Abnahme des Serumsulfatspiegels, während Aspirin und Salicylsäure diesen Effekt nicht zeigen (GREILING, SCHULER, 1963). Das läßt daran denken, daß die Synthese des Salicylamidsulfats eine Erschöpfung der Sulfatreserven verursacht, da Salicylate diesen Stoffwechselmechanismus nicht benutzen. Wie schon anhand der Abb. 30 gezeigt, kann die natürliche Beschränkung der Salicylamidsulfatbildung durch das zur Verfügung stehende Sulfat aufgehoben werden, wenn man gleichzeitig mit Salicylamid auch L-Cystein appliziert.

Aus der Nahrung selbst wird nur wenig organisches Sulfat resorbiert; so muß das für die Konjugation benötigte Sulfat größtenteils durch Oxidation organischen Schwefels gebildet werden. Schwefelhaltige Aminosäuren wie Methionin, Cystin und Cystein werden im menschlichen Stoffwechselprozeß in organisches Sulfat umgewandelt (SABRY und Mitarb., 1965, SÖRBO, 1966) und stehen als bedeutende Sulfatquelle zur Verfügung. Soweit die so gewonnene Schwefelsäure nicht für die physiologische Konjugation verbraucht wird, erscheint sie dann als anorganisches Sulfat im Harn.

BÜCH und Mitarb. (1965) berichteten, daß das Verhältnis von N-Acetyl-p-Aminophenolsulfat (NAPAP-Sulfat) zu NAPAP-Glukuronid im Urin von Ratten größer als 1 war bei einer Dosis von NAPAP bis 150 mg/kg Körpergewicht und kleiner als 1 nach Dosen von 300 mg/kg und darüber. Diese reziproke Beziehung entspricht in ihrem Ergebnis der Studie, die LEVY und MATSUZAWA für Salicylamid anstellten. BÜCH und Mitarb. (1968) diskutierten als Ursache für die verminderte Sulfatkonjugation in hohen Dosisbereichen zwei Möglichkeiten: entweder liegt eine Substrathemmung bei dem für die Sulfatkonjugation verantwortlichen System vor, oder - und dies ist wahrscheinlicher - die Auswirkung einer Konkurrenz durch das für die Glukuronidbildung verantwortlichen Systems infolge eines höheren K_m -Wertes (K_m -Wert ist ein Maß für die Konjugation).

Es ist bezeichnend, daß die begrenzte Kapazität dieses Prozesses, der für die Salicylamidsulfat-Synthese beim Menschen verantwortlich ist, in niedrigen Dosen offenbar wird. Die Biotransformationsrate der meisten Arzneimittel ist im allgemeinen proportional der

Konzentration dieser Mittel am Ort der Biotransformation. Betrachtet man die Ausscheidungsvorgänge pharmakokinetisch, so folgt nach NELSON (1961) augenscheinlich eine Reaktionskomponente dieses Ausscheidungsmechanismus einem kinetischen Prozeß erster Ordnung.

Die pharmakokinetische Elimination des Salicylamids scheint äußerst komplex zu sein. Von BOSTRÖM (1966) ist die Bildung von Phenolsulfat in Leber, Nebennieren, Dünndarm und Nierengewebe des Menschen nachgewiesen worden. Da die Salicylamidmetaboliten sogar in einem sehr niedrigen Dosisbereich nicht konstant und unabhängig von der Dosis werden, darf man daraus schließen, daß die Bildung des Salicylamidsulfats bei maximaler Kapazität mindestens in einem von mehreren Orten (vielleicht der Darmmukosa) sogar dann verläuft, wenn die Dosis so niedrig wie z.B. 75 mg war. Dieser Schluß stützt sich auf die Tatsache, daß das Ausmaß der Salicylamidsulfat-Bildung sogar noch größer war, wenn das Arzneimittel in sehr langsam absorbierbarer Tablettenform verabreicht wurde.

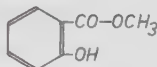
Die Ergebnisse der erwähnten Autoren zeigen, daß der Mensch eine relativ begrenzte Kapazität für die Biotransformation von gewissen Arzneimitteln besitzt und daß diese Kapazität überschritten wird, wenn Arzneimittel wie Salicylamide und Salicylate in therapeutischen Dosierungen verabreicht werden. Das hat Folgen für die klinische Pharmakologie und Medizin, da die Kinetik der Ausscheidung und das metabolische Schicksal solcher Substanzen unter anderem von der Dosis und der Dosisform beeinflusst werden. Soweit diese Substanzen gleichzeitig mit anderen Pharmaka, die dieselben Stoffwechselwege durchlaufen, verabreicht werden, besteht die Möglichkeit einer kompetitiven Beeinflussung, die eine langsamere Elimination und eine größere Akkumulation wahrscheinlich machen.

IV. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN STOFFWECHSEL DER METHYLSALICYLSÄURE

1. Chemische Eigenschaften

Methylsalicylsäure

Formel:



Methylsalicylsäure ist eine farblose bis leicht gelbliche Flüssigkeit, die den charakteristischen Geschmack und Duft des Wintergrüns besitzt und deshalb auch als Wintergrünöl bezeichnet wird. In Wasser ist sie mäßig löslich, vollständig löslich in Alkohol und Äther. Sie unterliegt einer Hydrolyse im Alkalischen, wird aber nicht so sehr gespalten wie beispielsweise Acetylsalicylsäure. Der Salicylsäuremethylester ist Bestandteil des Wintergrün-, Rauten- und Nelkenöls.

2. Absorption der Methylsalicylsäure

Methylsalicylsäure wird auf die Haut appliziert und dann so schnell absorbiert, daß bereits Spuren davon nach 15 Min. im Urin entdeckt worden sind (zit. nach DAVISON, MANDEL, 1965). Die Absorption nimmt zu, wenn der Ester in Alkohol oder wasserfreiem Lanolin gelöst wird. Trägt man bei gesunden Menschen 200 mg Methylsalicylsäure auf die Haut, so scheiden sie ungefähr 25 % unverändert im Urin aus. Der Anteil an unverändert ausgeschiedenem Methylsalicylat beträgt beim Kaninchen nach CASTAGNOU (1952) fast 28 % des ausgeschiedenen Gesamtsalicylats.

GROSS und GREENBERG (1948) berichteten über 427 Todesfälle in den USA durch Methylsalicylsäurevergiftungen in den Jahren 1926/28 und 1930/43. Man könnte als schädliche Substanz Methylalkohol in Erwägung ziehen, denn er wird bei der Hydrolyse der Methylsalicylsäure in geringen Mengen frei. CASTAGNOU u. Mitarb. glaubten, daß diese freigesetzten Mengen zu gering seien, um toxisch wirken zu können. MAC CREADY (1943) und CASTAGNOU (1952) fanden vielmehr, daß die toxischen Manifestationen der Methylsalicylsäure denen durch Natriumsalicylat ähnlich waren.

Nach DAVISON u. Mitarb. (1965) wird Methylsalicylsäure so schnell zu freiem Salicylat hydrolysiert, so daß hauptsächlich diesem Hydroly-

sat die toxische Wirkung zugeschrieben werden müßte.

3. Plasmakonzentration der Methylsalicylsäure

Messungen über die ans Plasma gebundene Methylsalicylsäure und freies Salicylat sind von DAVISON, ZIMMERMAN und SMITH,PK. bei Ratten, Hunden und auch an Menschen durchgeführt worden.

A) Plasmakonzentration der Methylsalicylsäure bei Tieren

Plasmakonzentration bei Ratten: Methylsalicylsäure wurde in 2%iger Methylcellulose aufgelöst, in einer Dosis, die 500 mg/kg entspricht und durch eine Sonde den Ratten zugeführt. Die Tiere wurden mit Äther anaesthetisiert und Blut nach 20 min oder 60 min durch intrakardiale Punktion abgezogen. 2 ml Plasma wurden zur Bestimmung des Methylsalicylats und des freien Salicylats verwendet. Man analysierte außerdem 4 ml Hirnhomogenisat (1 Teil Gewebe und 3 Teile Wasser). Die folgende Tabelle enthält die Durchschnittswerte des Gesamtsalicylats für Gruppen zu jeweils 10 Tieren.

Tabelle 27 : Plasma- und Gehirnkonzentration des Gesamtsalicylats in mg/kg in Ratten nach oraler Verabreichung von Methylsalicylat und Natriumsalicylat
(nach DAVISON u. Mitarb., 1960)

Analysiertes Gewebe	Minuten nach der Verabreichung	nach Methylsalicylat	nach Natriumsalicylat
		500mg/kg*	500mg/kg*
Plasma	20	217 ± 16,1§	296± 22,3
Gehirn	20	8± 2,7	38± 5,9
Plasma	60	278± 16,7	316± 24,8
Gehirn	60	42± 7,3	52± 7,4

* Berechnet als freie Salicylsäure

§ Mittelwert ± Standardfehler (Durchschnittswert für 10 Tiere)

Plasmakonzentration bei Hunden : DAVISON und Mitarb. verabreichten an ausgehungerte Hunde Methylsalicylsäurekapseln in einer Dosis von 300 mg/kg . Sie entzogen den Tieren nach einer und vier Stunden Blut aus der Vena cephalica ; das Plasma wurde analysiert. Drei Hunde wurden in fünf sich wiederholenden Experimenten verwendet. Das Ergebnis war, daß in beiden Zeitintervallen eine fast 95 % vollständige Hydrolyse zu verzeichnen war. Die Reizung des Magens, durch Methylsalicylsäure hervorgerufen, verursachte in einigen Fällen Erbrechen ; diese Fälle wurden in der Versuchsreihe nicht berücksichtigt.

B) Plasmakonzentration der Methylsalicylsäure beim Menschen

Um die Studie über die Plasmakonzentration zu vervollständigen, verglichen DAVISON, ZILMERMAN und SMITH (1961) die Absorption von Methylsalicylsäure ins menschliche Blut mit der von Acetylsalicylsäure. 0,42 ml Methylsalicylsäure (entspricht einer äquivalenten Menge Acetylsalicylsäure von 0,6 g) wurde in 5 ml Äthanol gelöst und in 200 ml kaltes Gingerale gegeben, um den Geschmack zu verdecken. Diese gut verteilte Suspension mußte von 6 jungen Erwachsenen (4 Männer und 2 Frauen), die wenigstens 10 Stunden lang gefastet hatten, am Morgen getrunken werden. Die Acetylsalicylsäure wurde ebenfalls aufgelöst und in der gleichen Weise verabreicht. Nach 15 min. und 90 min. wurden 15 ml Blut durch Venenpunktion abgezogen und analysiert. Die Konzentration der Methylsalicylsäure bestimmte man hier nach zuvor durchgeführter Hydrolyse über die freie Salicylsäure.

Einen Vergleich des Plasmasalicylatspiegels im Menschen in mg/l nach oraler Verabreichung von Methylsalicylat und Acetylsalicylsäure bringt die Tabelle 28 auf der folgenden Seite.

Tabelle 28: Vergleich der Plasmasalicylatspiegel beim Menschen in mg/l* nach oraler Gabe von Acetylsalicylsäure u. Methylsalicylat
(nach DAVISON u. Mitarb., 1961)

Versuchs person	Gabe von Methylsalicylat *						Gabe von Acetylsalicyls.*	
	15 min.			90 min.			15 min.	90 min.
	Methyl Salicyl.)	freies Salicyl.)	Gesamt Salicyl.)	Methyl SA) ₁	freies SA	Gesamt SA	Gesamt SA	Gesamt SA
P.S.	6,4	8,8	15,2	3,2	5,0	8,2		
D.C.	3,2	7,7	10,9	5,7	21,1	26,8	16,9	26,8
L.E.	4,7	7,4	12,1	2,5	7,3	9,8	7,3	22,3
L.S.	4,5	13,6	18,1	0	10,8	10,8	25,0	34,0
C.D.	4,5	6,0	10,5	1,3	9,6	10,9	16,9	20,4
E.Z.	6,3	4,4	10,7	4,1	9,1	13,2	25,0	18,4
Mittel:	4,9	7,9	12,8	2,8	10,5	13,3	18,2	24,5
Standard Abweichung	0,05	1,27	1,26	0,82	2,29	2,78	3,26	2,87

*Dosis durchschnittlich 7 mg/kg als Salicylsäure ; SA = Salicylsäure
)₁ Berechnet als freie Salicylsäure

Im Gegensatz zu anderen Arten fand man einen merklichen Anteil unhydrolisiertes Methylsalicylat, 39 % nach 15 min.! Die statistische Auswertung zeigte, daß die Zunahme der Hydrolyserate zwischen dem Versuch nach 15 min. und dem Versuch nach 90 min. signifikant erhöht war.

4. Umwandlung der Methylsalicylsäure im Körper

A) Untersuchungen über die Hydrolyse beim Menschen

Der Abbau der Methylsalicylsäure geschieht durch Hydrolyse mittels spezifischer Esterasen, wobei die anfallende Salicylsäure bzw. das Salicylat durch die bereits beschriebenen Mechanismen zur Entgiftung - Kopplung an Glukuronsäuren, Oxidation zu Gentisinsäure u.ä. - eliminiert und das entstehende Methanol in den Stoffwechsel eingeschleußt wird. Methanol geht dabei durch Oxidation in Formaldehyd über, dem selbst wiederum drei Reaktionsmöglichkeiten offenstehen : 1. Oxidation zu Formiat. 2. Disproportionierung zu Methanol und Formiat unter Beteiligung der Alkoholdehydrogenase. 3. Übertragung auf das Coenzym F unter Bildung von Formyltetrahydrofolsäure, welche - unter Mitwirkung von Vitamin B₁₂ - als Donator labiler Methylgruppen dient.

Nur in geringen Mengen wird Methylsalicylsäure unverändert ausgeschieden. CASTAGNOU und Mitarb. fanden bei Patienten mit Methylsalicylsäure-Vergiftungserscheinungen im Urin freie Methylsalicylsäure.

Eine Vielzahl von Experimenten versuchten den Ort bzw. das Organ, welches die Methylsalicylsäure hydrolisiert, festzustellen. Hydrolyse in der Blutstrombahn schien der wahrscheinlichste Ort des Metabolismus zu sein. MOUNTER und WHITTAKER haben 1953 über 5 Enzyme berichtet, die im menschlichen Blut Phenolester hydrolisieren sollen.

B) Die Hydrolyseaktivität bei Tieren

DAVISON und Mitarb. untersuchten zuerst die hydrolisierende Wirkung

von defibriniertem Hundeblut, einmal gewaschenen Erythrozyten und dann Serum auf Methylsalicylsäure. Die Inkubationen wurden bei 37°C an der Luft durchgeführt, ebenso Kontrollhydrolysen im Dampfinkubator und ohne Inkubator. In inaktivierten Kolben fand man zwar 15 % Hydrolysat vor, aber keinen signifikanten Anstieg, welcher durch das Serum oder die Erythrozyten hätte induziert worden sein können, war nachweisbar. Ähnliche negative Ergebnisse fand man bei Experimenten mit Rattenserum - und Erythrozyten. Hydrolytische Eigenschaften der Leber wurden ebenfalls getestet. Rattenleber wurde gewaschen bis sie relativ frei von Blut war und Homogenisate zu 9 Teilen in 0,25 M Zuckerlösung hergestellt. 4 ml Homogenisat wurde mit 200 mg Methylsalicylsäure, wie oben schon beschrieben, inkubiert. Fast vollständige Hydrolyse konnte beobachtet werden, nur die Analyse im Dampfinkubator zeigte 23%. Ähnliche Experimente mit Homogenisaten von Kaninchen -, Hunde- und Affenleber gaben zu 99% (K), 79% (H), 96% (A) Hydrolyse der Methylsalicylsäure im Vergleich zu dampfinkubierten Kontrollwerten, welche im Durchschnitt nur zu 13% hydrolysiert wurden. Aus diesen vergleichenden Experimenten darf der Schluß gezogen werden, daß als Ort der Hydrolyse der Methylsalicylsäure vornehmlich die Leber in Frage kommt.

Tabelle 29 : Hydrolyse von Methylsalicylat durch verschiedene Gewebe u. Flüssigkeiten der Ratte (in vitro)
(nach DAVISON, ZIMMERMAN u. SMITH, 1961)

Gewebe	Anzahl der Bestimmungen	% hydrolysiert
Serum	2	0
Erythrozyten	2	0
Darm	10	14
Niere	5	16
Magen	5	2
Pankreas	3	18
Milz	4	16
Leber	14	99

Andere Hydrolyseaktivitäten von verschiedensten Geweben der Ratte wurden im Vergleich zur Leberaktivität gemessen und können aus obiger Tabelle 29 entnommen werden. Sie zeigen eine relativ niedrige Aktivität und - bezieht man die Masse der Leber mit ein - sprechen dafür, daß in vivo nur ein kleiner Teil der Totalhydrolyse auch von extrahepatischen Esterasen übernommen werden. CASTAGNOU (1952) vermerkt z.B., daß eine umfassende Hydrolyse im Magen nicht stattfindet.

C) Blockierung der Demethylierung durch Diisopropylfluorophosphat

Die Hydrolyse der Methylsalicylsäure in der Leber kann blockiert werden. DAVISON u. Mitarb. testeten dies in einem Versuch mit Rattenleber. Sie nahmen 10 mol Physostigminsulfat pro Kolben, welches aber keinen Einfluß auf die Analyse zeigte, während 1 mol Diisopropylfluorophosphat (DFP) die Esteraseaktivität völlig verschwinden ließ. Bei dieser Beobachtung zeigen DAVISON u. Mitarb. in Übereinstimmung mit MANDEL u. Mitarb. (1953) und ALDRIDGE (1953a,b), daß diese Esterase nicht dem Typus echte- oder Pseudocholinesterase, sondern - wie die Hemmung durch DFP nahelegt - eher dem Typus ali-Esterase oder β -Esterase entsprechen muß.

D) Zusammenfassung

DAVISON, ZIMMERMAN und SMITH (1961) zeigten durch Plasmaanalysen : Methylsalicylat wird schnell absorbiert, nach oraler Applikation bei Ratten und Hunden vollständig hydrolysiert, während beim Menschen die Hydrolyse des Esters langsamer erfolgt (21% vom Gesamtsalicylat im menschlichen Plasma war noch nach 90 min. als Methylsalicylat vorhanden, verglichen mit den geringen Mengen, welche bei Hunden und Ratten nach 60 min. vorgefunden wurden). Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß der Mensch beträchtlich weniger Methylsalicylsäure verabreicht bekam, nämlich 7 mg/kg im Gegensatz zu Ratte und Hund mit 300 mg/kg. DAVISON u. Mitarb. halten es für möglich, daß bei größeren Mengen Methylsalicylat die Entgiftungsmechanismen überfordert würden und eine geringere Hydrolyse stattfände. Die hochfett-

löslichen, undissoziierten Moleküle könnten eine größere Aufnahme in bestimmte Gewebe, wie z.B. Gehirn finden und hierdurch eine größere Vergiftung bewirken. Die Forschungen von CASTAGNOU u. Mitarb. implizieren ebenfalls eine herabgesetzte Hydrolyserate, da seine Patienten sogar noch freie Methylsalicylsäure ausschieden. Erwiesen ist, daß bei den Tierespezies Ratte, Kaninchen, Hund, Affe der Ort der Methylsalicylsäurehydrolyse die Leber ist. Zieht man die Plasmakonzentration des unhydrolysierten Ester in Betracht, so ist noch nicht geklärt, ob die menschliche Leber vergleichbare Fähigkeiten der Auftrennung der Methylsalicylsäure besitzt.

V. DISKUSSION

Salicylsäure dient heute vorwiegend als Keratolytikum. Für die innere Anwendung kommt wegen der besseren Verträglichkeit Natrium-salicylat in Frage; es wird hauptsächlich als Antirheumatikum verwendet und ist als Analgetikum und Antipyretikum von der Acetylsalicylsäure oder Aspirin fast völlig verdrängt worden. In den USA werden pro Einwohner und Jahr mehr als 150 Tabletten Aspirin geschluckt. Obwohl es seit nahezu 80 Jahren das meist verbrauchte Arzneimittel der Welt darstellt, sind seine Wirkungsmechanismen in biochemischer Hinsicht noch nicht vollständig erforscht. In der medizinischen Literatur sind in jüngster Zeit neuere biologische Wirkungen der Acetylsalicylsäure beschrieben. Einerseits ist die Hemmung der Plättchenaggregation entdeckt worden, die für neuere Indikationen wie z.B. Thromboseprophylaxe praktisches Interesse besitzt. Andererseits fanden Forscher um COLLIER (1970) und VANE (1970) eine Erklärung für die entzündungshemmende und fiebersenkende Wirkung des Aspirins: die Ausschüttung von Prostaglandinen, die bei der Regulierung der Körpertemperatur und an der Entstehung von Fieber maßgeblich beteiligt sind, wird durch Aspirin blockiert; so verhindert Aspirin, daß die Prostaglandine den Entzündungsprozeß weiter unterhalten. Drittens haben in letzter Zeit mehrere Autoren auf verschiedene Nebenwirkungen der Acetylsalicylsäure aufmerksam gemacht, obschon diese seit Jahrzehnten als untoxisch und relativ harmloses Arzneimittel angegeben wurde. Auf häufige gastro-intestinale Blutungen und mögliche Nierenschädigung nach längerer Einnahme von Acetylsalicylsäure ist hingewiesen worden (GILMAN, 1964, und WOOD u. Mitarb., 1962). Die beschriebenen Asthmaanfälle, anaphylaktische Schockzustände und urtikarielle Hauterscheinungen nach Aspirineinnahme (u.a. GIRALDO u. Mitarb., 1969, und SAMTER u. Mitarb., 1968, DE WECK, 1970 u. 1971) sind wahrscheinlich alle auf eine allergische Reaktion des Körpers zurückzuführen. Dabei kann als mögliches Allergen ein Verunreinigungsprodukt bei der Aspirinherstellung, das Acetylsalicylsäureanhydrid, verantwortlich gemacht werden; es ruft im Körper die Bildung von Antiaspirylkörpern hervor.

Untersuchungen über das Schicksal der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure zeigen, daß die beiden Substanzen im menschlichen Organismus bei einem pH-Wert von 1 innerhalb von 2 Stunden bis zu 90 % absorbiert werden, bei neutralem pH-Wert dagegen weniger als 30 %. Nach HOGGEN u. Mitarb. (1957) beträgt die durchschnittliche Absorptionsrate beim Menschen, nach 20 Minuten bei einer spontanen basalen Magensekretion mit einem pH von 1,8, für die Salicylsäure als starker Säure 61 % und für die etwas schwächere Acetylsalicylsäure 36 %.

Für den relativen Betrag der Absorption nach oraler Verabreichung eines Arzneimittels spielen 3 Faktoren eine Rolle :

1. Die Fähigkeit der Substanz, sich im Magen aufzulösen. (Dabei ergeben schnell absorbierbare Substanzen einen niedrigeren Plasmaspiegel als langsam absorbierbare)
2. Die Zeit, in der die Substanz im Magen verweilt. (Sie kann durch "aufschäumende" Mittel verkürzt werden, ev. wegen CO_2 -Bildung)
3. Das Volumen des Mageninhalts.

LEVY, RUTOWSKY und GUMTOW (1961) haben ebenfalls auf die Wichtigkeit der Aufschließbarkeit, Lösungszeit und Partikelgröße von Salicylaten bei deren Absorption hingewiesen.

Die intestinale Absorption hängt gleichermaßen von den physikochemischen Bedingungen ab (z.B. wird Salicylsäure bei einem pH-Wert von 4 zu 64 % und bei einem pH von 8 nur zu 10 % absorbiert) und beträgt nach 30 Minuten bei der Salicylsäure ungefähr 60-70 %, bei der Acetylsalicylsäure etwa 50 %.

Für die rektale Absorptionsrate ist die Suppositoriengrundmasse, nicht aber die Wasserlöslichkeit des Arzneimittels verantwortlich. Nach NEUWALD und KUNZE (1964) erreichen sowohl Aspirin als auch Calciumacetylsalicylat nach guter und schneller Absorption nach 3-4 Std. einen maximalen Plasmawert - der mittlere Wert liegt bei 4,5 mg% . Natrium-salicylat zeigt dagegen ein abweichendes Verhalten, da es bereits 30 Minuten nach rektaler Applikation einen maximalen Plasmawert von 4,41 mg% erreicht und dieser Wert fast 4 Std. lang konstant bleibt.

LOWENTHAL und BORZELLECA (1965) bestimmten den Plasmaspiegel bei Hunden nach rektaler Absorption von Salicylsäure und Natrium-salicylat : Der Wert der Salicylsäure übertraf mit 6,1 mg% den des Natrium-salicylats um fast das doppelte. Da die Salicylsäure in den Zäpfchen in undissoziierter Form vorliege und die Salicylsäure gerade in diesem chemischen Zustand absorbiert werde, müsse nach Meinung dieser Autoren das leicht lösliche und stark dissoziierte Natrium-salicylat einen viel niedrigeren Plasmaspiegel aufweisen.

Nach Verabreichung von Salicylsäure und Acetylsalicylsäure sind je nach Absorptionsbedingungen nach 1-2 Stunden die höchsten Plasmaspiegel erreicht. Bis zu 90 % des Salicylats sind bei einem Blutspiegel von 5,8 mg/100 ml an die Albuminfraktion gebunden, wobei das Ausmaß der Bindung einmal von der Dosismenge und dem chemischen Bau der beiden Arzneimittel Salicylsäure und Acetylsalicylsäure, zum andern von der Konzentration und der chemischen Beschaffenheit der Eiweißmoleküle abhängt. Ein sehr geringer Teil ist an die Globulinfraktion gebunden - KUCERA und Mitarb. (1969) konnten bei in-vitro-Versuchen zeigen, daß bei einer Konzentration von 5 mg Salicylat pro 100 ml Globulinlösung immerhin 16 % Salicylat an Globuline gebunden wurde.

Unterschiedliche Bindungsfähigkeit des Plasmas bei verschiedenen Tierarten und beim Menschen stellten u.a. POTTER und GUY (1964) STURMAN und SMITH (1967) und KURTZ und FRIEMEL (1967) fest : Salicylsäure kann von menschlichem Plasma bis zu 82 % gebunden. Der Mensch wird nur noch vom Kaninchen übertroffen, dessen Plasma aufgrund eines sehr hohen Anteils an Albumin bis fast 86 % an verabreichtem Salicylat binden kann. Schwein, Meerschweinchen, Rind, Ratte und Hund binden (in absteigender Reihenfolge) weniger Salicylat als der Mensch.

Acetylsalicylsäure wird nicht nur an Serumalbumin gebunden, sondern es acetyliert Serumalbumin des Menschen an einer bestimmten Stelle des Albuminmoleküls - die Acetylierung gerade an dieser Stelle hat eine Änderung der Konformation des Albuminmoleküls zur Folge. Solche modifizierten Albuminmoleküle sind noch Wochen nach der Einnahme von Aspirin im Blut nachweisbar.

Ein paradoxes Verhalten zeigt Acetylsalicylsäure bei in-vitro-Experimenten von ALI und ROUTH (1969) :

C¹⁴-markierte Acetylsalicylsäure wurde - mit der Methode der Ausgleichsdialyse - erst nach 53 Stunden vollständig an Albumin gebunden.

C¹⁴-markierte Acetylsalicylsäure ersetzte bzw. verdrängte bereits an Serumalbumin gebundene Salicylsäure.

Eine brauchbare und vernünftige Erklärung dieser Phänomene liegt allerdings nicht vor.

ALPEN, MANDEL, RODWELL und SMITH (1951) untersuchten als erste die metabolische Umwandlung der Salicylsäure im menschlichen Organismus mithilfe C¹⁴-markierter Salicylsäure. Berücksichtigt man die unterschiedlichen Versuchsmethoden anderer Autoren und intraindividuelle Bildungs- und Ausscheidungsdaten, so erscheinen nach der Einnahme therapeutischer Dosen von Salicylat die verschiedenen Metaboliten in folgender Verteilung im Urin : 50 % der verabreichten Salicylsäure werden unverändert ausgeschieden, etwa 25 % Glukuronsäurekonjugate (sowohl als Salicylacyl- als auch als Salicylphenolglukuronide) gebildet, ungefähr 17 % der Salicylsäure mit Glycin zu Salicylursäure konjugiert und 3-6 % zu Gentisinsäure oxidiert.

Erstaunlich ist, daß durchschnittlich die Hälfte der verabreichten Salicylsäure unverändert im Urin ausgeschieden wird. Die Menge der zurückerhaltenen Salicylsäure hängt vom pH-Wert des Urin ab; so kann bis zu 80 % freie Salicylsäure erhalten werden, wenn der Urin entweder durch Bikarbonat, Acetazolamid oder Hyperventilation alkalisch gemacht wird. Der Anteil der Konjugationsprodukte scheint dagegen relativ konstant zu sein.

Die Dauer der Ausscheidung, in "biologischer Halbwertszeit" ausgedrückt, variiert zwischen den einzelnen Versuchspersonen aufgrund der individuellen Konstitution eines jeden menschlichen Organismus; sie beträgt zwischen 2 und 9 Stunden (BRODIE, 1959, und LEVY, HOLLISTER, 1964). Das würde bedeuten, daß bei Patienten, die sehr

langsam metabolisieren und ausscheiden, unter Umständen auch nach therapeutischen Mengen verabreichten Salicylats mit Kumulation zu rechnen ist.

RHEINBERG und Mitarb. (1967) berichten außerdem, daß für die Ausscheidungsdauer der Salicylate auch der Zeitpunkt ihrer Einnahme entscheidend ist. Die Ausscheidung dieser Medikamente wird um fast 5 Stunden verlängert, wenn sie um 7 Uhr morgens verabreicht werden gegenüber der kürzesten Ausscheidungsdauer bei Einnahme der Medikamente um 23 Uhr abends.

Weiterhin ist die biologische Halbwertszeit der Salicylate - im Gegensatz zu den meisten anderen Medikamenten - von der eingenommenen Dosismenge abhängig : bei geringen Dosen kann die Ausscheidung im Urin 2 bis 3 Stunden dauern, bei großen Dosen bis zu 30 Std.

Acetylsalicylsäure wird je nach individueller Hydrolyserate relativ rasch (Halbwertszeit ungefähr 18 Minuten) zu Salicylsäure und Essigsäure desacetyliert und in den bereits beschriebenen Metaboliten der Salicylsäure ausgeschieden. Es ist auffallend, daß die Hydrolyse im Blut nahezu doppelt so schnell verläuft wie im Plasma. Verantwortlich dafür dürften in erster Linie die in den festen Bestandteilen des Blutes vorkommenden hydrolisierenden Enzyme sein - z.B. enthalten rote Blutkörperchen Acetylcholinesterasen; in weißen Blutkörperchen fand CLINE (1965) u.a. auch Esterasen.

Ratten und Meerschweinchen weisen eine viel höhere Hydrolyserate als der Mensch auf, dessen Hydrolyseaktivität ungefähr der von Katze und Kaninchen nahekommmt, während Hunde Acetylsalicylsäure ziemlich langsam hydrolisieren.

MANDEL, CAMPOSOS und SMITH (1954) fanden nach oraler Einnahme von 1 bis 2 g Aspirin auch ungespaltene Acetylsalicylsäure im Plasma, deren Konzentration jedoch höchstens einen Wert von 2 mg/100 ml erreichte.

Ob es diesem ungespaltenen Aspirin vorbehalten ist, nach VANE und Mitarb. (1971) therapeutisch zu wirken, indem es die Prostaglandinausschüttung drosselt - ob nach rascher Hydrolyse von Aspirin die freigesetzte Salicylsäure für den therapeutischen Effekt verantwortlich gemacht werden kann - oder ob gar "aspirylierte" Albumine, von FARR und Mitarb. (1967) zum ersten Mal beschrieben, als Ursache

der therapeutischen Wirkung in Frage kommen, ist noch nicht entschieden und muß noch genauer erforscht werden.

Nach CAMBOSOS und KING (1954) erscheint nur 1,5 % einer verabreichten therapeutischen Dosis unverändert im Urin.

Salicylsäure wird mit Glycin zu Salicylursäure konjugiert. Durch die Kopplung an die Aminosäure löst sie sich besser in Wasser und wird somit nierengängig. Die ausgeschiedene Menge Salicylursäure nimmt nicht mit steigender Dosierung zu, wie dies etwa bei den anderen Salicylderivaten der Fall ist. BEDFORD, CUMMINGS und MARTIN (1965) konnten in ihren Experimenten nachweisen, daß bei einer Zunahme der Salicylatdosierung eine relative Verminderung der Ausscheidung der Salicylursäure eintritt. Ein Maximum der Salicylursäureausscheidung kann man nach der Einnahme von 1g Salicylat erwarten.

Obwohl GHAZAL und WRIGHT (1961) durch Gabe von Glycin bei Hunden eine Steigerung der Salicylursäurebildung erzielen konnten, fanden weder BEDFORD (1965) beim Menschen noch NELSON, HANANO und LEVY (1966) bei Ratten und Menschen eine Erhöhung der Salicylursäurebildung infolge zusätzlicher Glycinverabreichung bestätigt. Inwieweit diese begrenzte Salicylursäurebildung durch das Enzymsystem selbst verursacht wird, ob sie einer Beschränkung der renalen Clearance zuzuschreiben ist oder vielleicht eine höhere Salicylursäurebildung die weitere Bildung des Salicylsäure-Glycin-Konjugats hemmt, bleibt noch zu diskutieren.

Nach zusätzlicher Verabreichung von Benzoat sinkt die gebildete Menge an Salicylursäure auf die Hälfte der zu erwartenden Menge bei alleiniger Salicylat-Gabe. Dieser offensichtlich kompetitive Effekt wird verständlich, da Benzoesäure beim Menschen u.a. auch mit Glycin konjugiert wird und die maximale Bildungsrate der Hippursäure 20 mal höher ist als die der Salicylursäure (LEVY, 1965). LEVY und AMSEL (1966) fanden bei ihren Untersuchungen in geringen Mengen ein säurelabiles Salicylursäurekonjugat, möglicherweise als Glukuronid vorliegend. AUSTAD, CLAMP und WESTALL (1965) identifizierten bei neun ihrer Patienten Salicylursäure als Metaboliten der Aminosäure L-Tryptophan.

Durch Einführung einer Hydroxylgruppe in die Salicylsäure entsteht deren Oxidationsprodukt, die Gentisinsäure. Die Menge ihrer Bildung (zwischen 1 % und 8 % je nach Autor und Untersuchungsbedingungen) hängt von der gegebenen Dosierungsmenge ab. BOREHAM und MARTIN zeigten 1969, daß eine Steigerung der Dosis auf das Vierfache die Ausscheidung der Gentisinsäure auf das Doppelte erhöht. Nach Einnahme therapeutischer Dosen Salicylat und gleichzeitiger Gabe von Bikarbonat wurde die Ausscheidung der Gentisinsäure über $1/3$ gesteigert.

BATTERMAN, SOMMER (1953) und ARATA, MANGIOLA (1962) weisen darauf hin, daß sowohl bei der Verabreichung von Gentisinsäure selbst als auch von Aspirin ein geringer Teil der Gentisinsäure in konjugierter Form auftritt.

Als Konjugationsprodukt der Salicylsäure mit Glukuronsäure werden zwei Glukuronide im Urin ausgeschieden - zu 20-23 % das Esterglukuronid oder Salicylacylglukuronid und zu 13 % das Ätherglukuronid oder Salicylphenolglukuronid. (QUICK, 1938, KAPP und COBURN, 1942, SCHACHTER, 1957 u.1958) In den ersten Stunden nach der Salicylataufnahme wird hauptsächlich das Salicylacylglukuronid gebildet, während in den folgenden Stunden die Salicylphenolglukuronid-Synthese vorherrscht. Die Ausscheidung verläuft dabei annähernd proportional zu den jeweiligen Plasmawerten.

Die Glukuronidierung geschieht vorzugsweise in den Lebermikrosomen. Dort erfolgt mit Hilfe des Enzyms Glukuronyltransferase die Biosynthese der jeweiligen Glukuronide (DUTTON, STOREY, 1954 u. 1955, SMITH, MILLS, 1954). Die Niere ist ebenfalls zur Glukuronidsynthese befähigt und in geringerem Maße wird dies auch für die Lunge, die Magenschleimhaut und den Darm angegeben (WILLIAMS, 1959, und AITIO, HÄNNINEN, 1968).

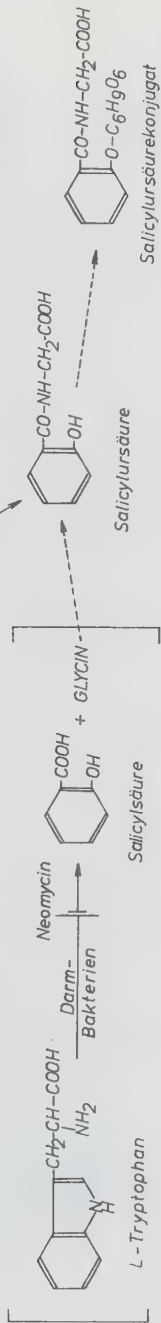
Beim Neugeborenen und Säugling ist die Glukuronidbildung stark verlangsamt, da das an der Bildung beteiligte Enzym Glukuronyltransferase als sog. "adaptives" Ferment nur eine geringe Aktivität zeigt (BROWN, 1958, und FORST, 1966, u.a.).

HÄNNINEN u. Mitarb. (1968) berichten von einer Zunahme der Glukuronyltransferaseaktivität in der Leber nach Verabreichung von cancerogenen und antipyretischen Substanzen. Sie beobachteten z.B. nach Gabe von Salicylamid einen Anstieg der UDP-Glukose-Dehydrogenase und UDP-Glukuronyltransferase.

p-Methoxybenzoat steigert nach SCHACHTER (1957) die Salicylacylglukuronid-Synthese auf das 6-fache des ursprünglichen Betrags; nach Gabe von Salicylamid kann die Salicylphenolausscheidung auf das 20-fache der normalerweise ausgeschiedenen Menge erhöht werden. Die Ursache dieser Steigerungsraten liegen an einer Induktion der Aktivität von UDP-Glukose-Dehydrogenase und UDP-Glukuronyltransferase durch Salicylamid bzw. p-Methoxybenzoat.

Probenecid, ein Inhibitor gewisser tubulärer Sekretionsmechanismen, verminderte die Salicylacylglukuronid-Clearance um durchschnittlich 57 %. Ein gleichzeitiges Ansteigen des Plasmaspiegels dieses Metaboliten war zu verzeichnen. Die Salicylphenolglukuronid-Clearance änderte sich dagegen weniger deutlich (SCHACHTER, 1958).

Folgendes Schema stellt den Stoffwechsel der Salicylsäure und der Acetylsalicylsäure (Aspirin) beim Menschen vereinfacht dar:



Salicylamid wird nach oraler Verabreichung schnell resorbiert und infolge einer geringen Bindung an Serumproteine rasch wieder ausgeschieden, sodaß kein hoher Plasmaspiegel erreicht wird - der Plasmaspiegel ist nur $\frac{1}{5}$ bis $\frac{1}{8}$ so hoch wie bei einer entsprechend vergleichbaren Menge Salicylat.

Salicylamid diffundiert rasch in die verschiedenen Körpergewebe und relativ schnell ins Gehirn. Die initiale Hirnkonzentration liegt viel höher als die der Salicylate. Im menschlichen Organismus wird Salicylamid nicht hydrolysiert. Eine pharmakologische Wirkung ist deshalb nur dem Salicylamidmolekül zuzuschreiben und nicht etwa einer Umwandlung in therapeutisch wirksames Salicylat.

Nach Gabe von 0,3 g Salicylamid wird der größte Teil (bis 80 %) als Glukuronid, ein geringer Teil unverändert im Urin ausgeschieden (MANDEL u. Mitarb., 1952). Salicylamidsulfat findet man nach größeren Dosen im Urin. Unter verschiedenen Absorptionsbedingungen (Menge, Aggregatzustand und Oberflächengröße des applizierten Salicylamids) ändert sich die Menge und das Verhältnis des ausgeschiedenen Salicylamidsulfats und Salicylamidglukuronids. Bei einem relativ langsamen Auflösungsvermögen und geringer Oberfläche (z.B. Tabletten, Dragees) muß über eine relativ lange Zeit ein niedriger Salicylamidspiegel abgebaut werden und zwar vornehmlich durch Konjugation mit Schwefelsäure (73%), während die gleiche Menge bei Gabe in Lösung zu 32% als Estersulfat abgebaut und ausgeschieden wird.

LEVY und MATSUZAWA (1967) fanden, daß das Ausscheidungsverhältnis Schwefelsäure-/Glukuronsäure-Konjugat in Abhängigkeit von der Salicylamid-Dosis variiert. Das Maximum der Ausscheidungsrate steigt nicht proportional der Größe der wachsenden Dosis an, sondern fällt von 55 % ausgeschiedenem Salicylamidsulfat auf 28 % bei einer Steigerung der Dosierung von 0,075 g auf 2,0 g Salicylamid und strebt einem begrenzenden Wert zu. Dagegen nimmt die Glukuronidexcretion mit steigender Dosierung zu.

Im menschlichen und tierischen Organismus ist die Konjugation mit Schwefelsäure außerdem durch die verfügbare Menge an anorganischem Sulfat begrenzt. Die Verabreichung von Salicylamid an Menschen

verursacht eine Abnahme des Serumsulfatspiegels - Aspirin und Salicylsäure zeigen diesen Effekt nicht (GREILING und SCHULER, 1963). Die natürliche Beschränkung der Salicylamidsulfat-Bildung infolge Erschöpfung der Sulfatreserven kann durch zusätzliche Gabe von Sulfat oder Sulfatvorstufen, wie z.B. schwefelhaltige Aminosäuren, aufgehoben werden. Verabreicht man beispielsweise L-Cystein vor der Einnahme von Salicylamid, so wird die Salicylamidsulfat-Konjugation und Ausscheidung von 28 % (bei normalem Serumsulfatspiegel) auf fast 50 % gesteigert.

Bei Säuglingen ist die Glukuronidbildung wegen der noch relativ geringen Aktivität der Glukuronyl-Transferase verlangsamt. Für diese teilweise ungenügende Glukuronidierung springt die Konjugation mit Schwefelsäure ein. Bei einem 5 Monate alten Säugling halten sich Glukuronid- und Sulfatbildung mit 45% zu 42% in etwa die Waage. Bei einem fast zweijährigen Kleinkind überwiegt jedoch die Bildung von Salicylamidglukuronid mit 54% gegenüber der Salicylamidsulfat-Bildung mit 38% recht deutlich, da das Ferment Glukuronyl-Transferase sich adaptiert hat und voll aktiv ist.

Zwischen 4% und 10% - je nach Dosismenge und Dosierungsform - wird Salicylamid zu Gentisamid oxidiert und als Gentisamidglukuronid im Urin ausgeschieden.

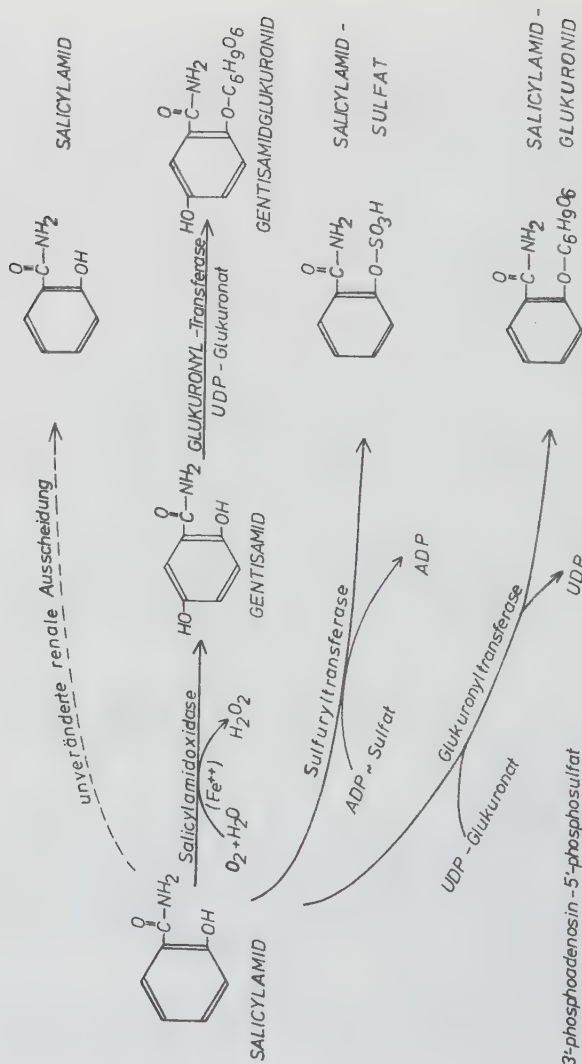
LEVY und MATSUZAWA haben eindeutig festgestellt, daß Salicylamid nur in konjugierter Form als Glukuronid oder Sulfat und als Gentisamidglukuronid ausgeschieden wird; sie konnten keine freie Gentisinsäure, kein freies Gentisamid und kein Salicylurat nachweisen.

FOYE und Mitarb. (1959) fanden allerdings bei Steinpatienten Salicylursäure im Urin.

BRAY (1948, 1949) hat nach Verfütterung hoher Salicylamid-Dosen an Hunde und Kaninchen neben Sulfat- und Glukuronidkonjugate ebenfalls Salicylursäure und sogar freie Salicylsäure bestimmen können. Aufgrund der erhaltenen Salicylur- und Salicylsäure muß man annehmen, daß zumindest Tiere Enzyme besitzen, die bei bestimmten Stoffwechselprozessen die NH_2 -Gruppe des Salicylamids abzuspalten vermögen.

In der folgenden Übersicht sind die möglichen Stoffwechselwege des Salicylamids im menschlichen Organismus vereinfacht dargestellt:

UMWANDLUNG UND AUSSCHIEDUNG DES SALICYLAMIDS IM KÖRPER DES MENSCHEN



ADP-Sulfat = 3-phosphoadenosin-5'-phosphosulfat

ADP = Adenosin ~3', 5'-diphosphat

UDP = Uridindiphosphat

UDP-Glukuronat = Uridindiphosphoglukuronat

Methylsalicylsäure wird hauptsächlich auf die Haut aufgetragen und dort so schnell resorbiert, daß Spuren bereits nach 15 Minuten im Urin nachweisbar sind (DAVISON, MANDEL, 1965).

Nach oraler Einnahme findet wahrscheinlich in der Darmmukosa ein Teil der Hydrolyse des Esters statt. 15 Minuten nach Verabreichung von Methylsalicylat waren noch 39 % , weitere 45 Minuten später noch 21 % des Gesamtsalicylats im Plasma als Methylsalicylsäure vorhanden (DAVISON, ZIMMERMAN, SMITH, 1961).

Fast vollständige Spaltung (95%) fand bei den Tierspecies Hund, Kaninchen und Ratte statt; selbst nach sehr hohen Dosierungen von 300 mg/kg Methylsalicylsäure wurden nach 1 Stunde im Plasma nur geringste Mengen ungespaltener Methylsalicylsäure vorgefunden. Der gesunde Mensch scheidet etwa 25 % einer eingenommenen Dosis Methylsalicylsäure unverändert im Urin aus. Beim Kaninchen soll der Anteil an unverändert ausgeschiedener Methylsalicylsäure nach CAS-TAGNOU (1952) fast 28 % des ausgeschiedenen Gesamtsalicylats betragen, was aber angesichts der raschen und vollständigen Hydrolyse bei Tieren (DAVISON u. Mitarb., 1961) nicht stimmen kann.

Der Abbau des Salicylsäuremethylesters geschieht bei Mensch und Tier durch spezifische Esterasen.

Die Spaltung erfolgt bei Tieren vornehmlich in der Leber, aber auch Pankreas, Milz, Darm und Niere sind zur Hydrolyse befähigt.

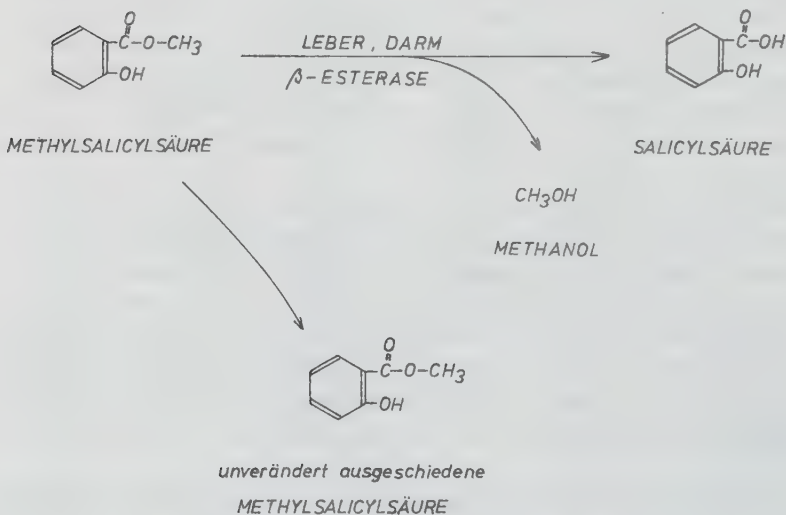
Obwohl MOUNTER und WHITTAKER (1953) beim Menschen 5 Enzyme beschreiben, die im Blut Phenolester hydrolisieren sollen, scheint die Spaltung der Methylsalicylsäure in der Blutstrombahn nicht sehr hoch zu sein, worauf u.a. auch der Plasmaspiegel des unhydrolysierten Esters hinweist. Es ist noch nicht geklärt, ob die menschliche Leber vergleichbare Fähigkeiten zur Spaltung von Methylsalicylsäure besitzt.

Die Hydrolyse der Methylsalicylsäure kann im Tierexperiment durch Diisopropylfluorphosphat (DFP) blockiert werden. DAVISON und Mitarb. (1961), MANDEL und Mitarb. (1953) und ALDRIDGE (1953) schließen infolge der Hemmung der Esterasen durch Diisopropylfluorphosphat, daß diese spezifischen Esterasen nicht dem Typ der Pseudocholinesterasen zuzuordnen sind, sondern dem Typ der β -Esterasen entsprechen

müßten.

Methylsalicylsäure wird in Salicylsäure und Methanol gespalten. CASTAGNOU und Mitarb. (1952) sind nicht der Meinung, daß die bei der Hydrolyse entstehenden Mengen an Methanol ausreichen, um toxisch wirken zu können. Die toxischen Manifestationen nach hohen Dosen Methylsalicylat seien den durch Natriumsalicylat hervorgerufenen Vergiftungssymptomen sehr ähnlich.

Die metabolische Umwandlung der Methylsalicylsäure beim Menschen läßt sich vereinfacht wie folgt darstellen :



VI. ZUSAMMENFASSUNG

Es wird über das Schicksal der Salicylsäure und ihrer Abkömmlinge Acetylsalicylsäure und Methylsalicylsäure sowie über Salicylamid und ihrer Stoffwechselprodukte im menschlichen und tierischen Organismus berichtet.

Die metabolische Umwandlung führt bei der Salicylsäure und Acetylsalicylsäure zu unverändert ausgeschiedener Salicylsäure und deren Konjugations- bzw. Oxidationsprodukte Salicylsäureglukuronid, Salicylursäure und Gentisinsäure.

Methylsalicylsäure wird in Salicylsäure und Methanol gespalten. Salicylamid wird beim Menschen nicht zu Salicylsäure metabolisiert, sondern in Form verschiedener Konjugationsprodukte ausgeschieden. Die analgetische und antirheumatische Wirkung ist dem ungespaltenen Salicylamidmolekül eigen.

Es wird gezeigt, daß der Stoffwechsel von Acetylsalicylsäure und Salicylsäure durch bestimmte chemische Verbindungen im Sinne einer Stoffwechselsteigerung beeinflusst und diese in verstärktem Maße entweder als freie Salicylsäure oder Salicylsäuremetaboliten ausgeschieden werden. Dies dürfte vor allem für die Toxikologie von Interesse sein.

Es wird diskutiert, ob die Acetylsalicylsäure durch ihre metabolische Umwandlung in Salicylsäure analgetisch wirksam ist oder ob dies bestimmten, durch die Acetylsalicylsäure verursachten chemischen Reaktionsmechanismen - z.B. Hemmung der Prostaglandinausschüttung oder Acetylierung bzw. Aspirylierung von Körperproteinen - zuzuschreiben ist.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALDRIDGE, W.N.
Two types of esterases (A a. B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate a method for their determination.
Biochem. J. 53 : 110 (1953)
2. ALI, M.A., J-I. ROUTH
The protein binding of acetylsalicylic acid and salicylic acid.
Clin. Chem. 15 : 1027 (1969)
3. AL-MONDHIRY, H., A.J. MARCUS, T.H. SPAET
On the mechanism of platelet function inhibition by acetylsalicylic acid.
Proc. Soc. exp. Biol. 133 : 632 (1970)
4. ALPEN, E.L., H.G. MANDEL, V.W. RODWELL, P.K. SMITH
The metabolism of C¹⁴ carboxyl salicylic acid in the dog and in man.
J. Pharm. Exp. Ther. 102 : 150 (1951)
5. ARATA, L., S. MANGIOLA
Ricerche sul metabolismo dell'acido salicilico nell'uomo.
Progr. Med. 18 : 229 (1962)
6. AUSTAD, W.I., J.R. CLAMP, R.G. WESTALL
Salicyluric acid as a metabolite of L-Tryptophan.
Nature 206 : 757 (1965)
7. AUGUSTINSSON, K.B.
Choline-esterases : studies in comparative enzymology.
Acta physiol. Scand. 15 : 182 (1948)

8. AUGUSTINSSON, K.B., D. NACHMANSON
Distinction between acetylcholine esterase and other
choline-ester splitting enzymes.
Science 110 : 98 (1949)
9. BAAS, H.K.
Beiträge zur Spaltung von Säureestern im Darm.
Z. physiol. Chemie 14 : 416 (1890)
10. BASTIDE, P.
La désacétylation et l'élimination in vivo de quelques
dérivés salicylés.
Ann. Biol. Chem. 12 : 518 (1954)
11. BASTIDE, P.
Processus de méthylation et de déméthylation dans l'organisme.
Biol. méd. 45 : 482 (1955)
12. BATTERMAN, R.C., E.M. SOMMER
Fate of gentisic acid in man as influenced by
alkalinization and acidification.
Proc. Soc. exp. Biol. 82 : 376 (1953)
13. BERLINER, R.W.
The Kidney
Ann. Rev. Physiol. 16 : 269 (1954)
14. BEDFORD, C., A.J. CUMMINGS, B.K. MARTIN
A kinetic study of the elimination of salicylate in man.
Brit. J. Pharmacol. 24 : 418 (1965)
15. BOREHAM, D.R., B.K. MARTIN
The kinetics of elimination of salicylic acid and the
formation of gentisic acid.
Brit. J. Pharmacol. 37 : 294 (1969)

16. BOSTRÖM, H.
Sulfate conjugation and conjugated sulfates.
Scand. clin. Lab. Invest. 17 : 33 (1966)
17. BRAY, H.G., W.V. THORPE, K. WHITE
The fate of certain organic acids and amides in the rabbit:
The application of paperchromatography to the metabolic
studies of hydrobenzoic acids and amides.
Biochem. J. 46 : 271 (1950)
18. BRAY, H.G., W.V. THORPE, B.E. RYMAN
The fate of certain organic acids and amides in the rabbit.
Biochem. J. 43 : 561 (1948)
19. BRAY, H.G., W.V. THORPE, K. WHITE
Kinetic studies of the metabolism of foreign organic compounds.
Biochem. J. 48 : 88 (1951)
20. BRODIE, B.B.
Pathways of drug metabolism.
J. Pharm. & Pharmacol. 8 : 1 (1956)
21. BRODIE, B.B., C.A.M. HOGBEN
Some physicochemical factors in drug action.
J. Pharm. & Pharmacol. 9 : 345 (1957)
22. BRODIE, B.B., J.R. GILETTE, B.N. LA DU
Enzymatic metabolism of drugs and other foreign compounds.
Ann. Rev. Biochem. 27 : 427 (1958)
23. BRODIE, B.B., J.J. BURNS, M. WEINER
Metabolism of drugs in subjects with Laennec's cirrhosis.
Med. exp. (Basel) 1 : 290 (1959)

24. BRODIE, B.F., R.P. MAICKEL
Comparative biochemistry of drug metabolism.
Proc. first intern. Pharm. Meeting 6 : 299 (1962)
25. BRODY, T.M.
Action of sodium salicylate and related compounds on
tissue metabolism in vitro.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 117 : 39 (1956)
26. BROWN, A.K., W.W. ZUELZER, H.H. BURNETT
Studies on the neonatal development of the glucuronide
conjugating system.
J. Clin. Invest. 37 : 332 (1958)
27. BÜCH, H., G. KARACHRISTIANIDIS, W. RÜDIGER
Beeinflussung der metabolischen Umwandlung von Phenacetin
und N-Acetyl-p-Aminophenol (NAPAP) durch Barbiturate.
Arch. exp. Path. Pharmac. 251 : 107 (1965)
28. BÜCH, H., W. RUMMEL, K. PFLEGER, CH. ESCHRICH, N. TEXTER
Ausscheidung freien und konjugierten Sulfates bei Ratte und
Menschen nach Verabreichung von N-Acetyl-p-Aminophenol.
Naunyn-Schmiedeberg.Arch.Exp.Path.Pharm. 259 : 276 (1968)
29. BURKARD, R.K.
Interaction of the aminobenzoate ions and serum albumin.
J. Amer. chem. Soc. 75 : 229 (1953)
30. CASTAGNOU, R., S. LARCEBAU, A. QUEYMENT
Contribution à l'étude de la toxicologie du salicylate
de méthyle.
Bull. Soc. pharm. Marseille 3 : 30 (1952)

31. CLARKE, E., B.M. EVANS, I. MCINTYRE, M.D. MILNE
Acidosis in experimental electrolyte depletion.
Clin. Sci. 14 : 421 (1955)
32. CLINE, M.J.
Metabolism of circulating leucocytes.
Physiol. Rev. 45 : 674 (1965)
33. COLLIER, H.O.
New light on how aspirin works.
Nature 223 : 35 (1969)
34. CUMMINGS, A.J., B.K. MARTIN
Relationship of plasma salicylate concentration to
urinary salicylate excretion rate.
Nature 195 : 1104 (1962)
35. CUMMINGS, A.J., B.K. MARTIN
Factors influencing the plasma salicylate concentration to
urinary salicylate excretion after dosage with aspirin.
Biochem. Pharmacol. 13 : 767 (1964)
36. CUMMINGS, A.J., B.K. MARTIN, G.S. PARK
Drug elimination by simultaneous first order and
zero order processes.
Nature 202 : 779 (1964)
37. CUMMINGS, A.J., B.K. MARTIN, R. RENTON
The elimination of salicylic acid in man: serum concen-
tration and urinary excretion rates.
Brit. J. Pharmacol. 26 : 461 (1966)
38. CUMMINGS, A.J., M.L. KING
The urinary excretion of acetylsalicylic acid in man.
Nature 209 : 620 (1966)

39. DARMADY, E.M.
The Kidney, S. 27
London : Churchill , 1954
40. DAVISON, C., L. SPITZER, P. SMITH
The binding of drugs related to salicylic acid by
bovine serum albumin.
Fed. Proc. 18 : 381 (1959)
41. DAVISON, C., E.F. ZIMMERMAN, P.K. SMITH
On the metabolism and toxicity of methyl salicylate.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 132 : 207 (1961)
42. DAVISON, C., P.K. SMITH
The binding of salicylic acid and related substances
to purified proteins.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 133 : 161 (1961)
43. DAVISON, C., J.L. GUY, M. LEVITT, P.K. SMITH
The distribution of certain non-narcotic analgetic agents
in the CNS of several species.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 134 : 176 (1961)
44. DAVISON, C., B.W. SMITH, P.K. SMITH
Effects of buffered and unbuffered acetylsalicylic acid
upon the gastric acidity of normal human subjects.
J. Pharm. Sci. 51 : 759 (1962)
45. DAVISON, C., H.G. MANDEL
in : Non-narcotic Analgesics and Antipyretics I :
Salicylates , S. 286-305
Pharmacology in Medicine, Ed. DiPalma, McGraw Hill Book
Company, N.Y. 1965

46. DEISS, W.P., P.P. COHEN
Studies in p-amino-hippuric acid synthesis in the human:
its application as a liver function test.
J. clin. Invest. 29 : 1014 (1950)

47. DE VRIES, A., B. ALEXANDER
Studies on amino acid metabolism. III. Plasma glycine concentration and hippuric acid formation following the ingestion of benzoate.
J. clin. Invest. 27 : 665 (1948)

48. DE WECK, A.L.
Acetylsalicylsäure : ein altes Arzneimittel in neuerem Blickwinkel.
Dtsch. med. Wschr. 96 : 1109 (1971a)

49. DE WECK, A.L.
Immunological effects of aspirin anhydride, a contaminant of commercial acetylsalicylic acid preparations.
Int. Arch. Allergy 41 : 393 (1971b)

50. DONE, A.K.
Drug intoxication
Pediat. Clin. N. Amer. 7 : 235 (1960)

51. DONE, A.K.
The nature of antirheumatic action of salicylates.
Clin. Pharmacol. Therap. 1 : 141 (1960)

52. DUTTON, G.J., I.D.E. STOREY
Uridine compounds in glucuronic acid metabolism.
I. The formation of glucuronides in liver suspension.
Biochem. J. 57 : 275 (1954)

53. DUTTON, G.J., I.D.E. STOREY
Uridine compounds in glucuronic acid metabolism. II. The isolation and the structure of "uridine-diphosphate glucuronic acid".
Biochem. J. 59 : 279 (1955)
54. DUTTON, G.J.
Glucuronide synthesis in foetal liver and other tissues.
Biochem. J. 71 : 141 (1959)
55. EVANS, D.A., C.A. CLARKE
Pharmacogenetics
Brit. Med. Bull. 17 : 234 (1961)
56. FARR, R.
The need to reevaluate acetylsalicylic acid (aspirin)
J. Allergy 45 : 321 (1970)
57. FORST, A.W.
Abwehrreaktionen. in : Physiologische Chemie
Hrsg.: Flaschenträger, B., E. Lehnartz
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1966
58. FOYE, W.O., R.N. DUVALL, W.E. LANGE, M.H. TALBOT, E.L. PRIEN
Urinary metabolites of salicylamide in stone-formers.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 125 : 198 (1959)
59. FRIEDLAENDER, S., FEINBERG
Aspirin allergy, its relation to chronic intractable asthma.
Amer. J. Med. 26 : 734 (1947)
60. GILMAN, A.
Analgesic nephrotoxicity. A pharmacological analysis.
Amer. J. Med. 36 : 167 (1964)

61. GIRALDO, B., M. BLUMENTHAL, W. SPINK
Aspirin intolerance and asthma. A clinical and immunological study.
Ann. intern. Med. 71 : 479 (1969)
62. GIRARD, J.P., F. HILDEBANDT, H. FAVRE
Hypersensitivity to aspirin: clinical and immunological studies.
Helv. med. Acta 35 : 86 (1969)
63. GHAZAL, A., H.N. WRIGHT
Glycine and glucuronic acid in salicylate intoxication.
Paper presented at 1st Intern. Pharmacol. Meeting,
Stockholm, 1961
64. GLASSON, B.
L'hydrolyse de l'aspirine dans le sang humain.
Helvetia Physiol. et Pharmacol. Acta 9 : C 67 (1951)
65. GLASSON, B.
Contribution à la toxicologie expérimentale des médicaments acétylés.
Schweiz. Med. Wschr. 82 : 851 (1953)
66. GREILING, H., B. SCHULER
Zur Wirkungsweise der Salicylsäure, Acetylsalicylsäure und des Salicylamids.
Z. Rheumaforsch. 23 : 47 (1963)
67. GROSS, M., L.A. GREENBERG
The Salicylates : A Critical Bibliographic Review.
Hillhouse Press, New Haven, 1948
68. GUTMAN, A.B., T.F. YÜ, J.H. SIROTA
A study, by simultaneous clearance technique, of salicylate excretion in man.
J. clin. Invest. 34 : 711 (1955)

69. HARRIS, P.A., S. RIEGELMAN
Acetylsalicylic acid hydrolysis in human blood and plasma I.
J. Pharm. Sci. 56 : 713 (1967)
70. HARTIALA, K., A. KASANAN, M. RAUSSI
The absorption of salicylamide in pernicious anemia,
gastric achylia and peptic ulcer.
Med. exp. Fenn. 41 : 549 (1963)
71. HARVALD, B., E. CLAUSEN
Nephrotoxicity of acetylsalicylic acid.
Lancet II: 767 (1960)
72. HAWKINS, D., R.N. PINCKARD, R. FARR
Acetylation of human serum albumin by acetylsalicylic acid.
Science 160 : 780 (1968)
73. HAWKINS, D., R.N. PINCKARD, I. CRAWFORD, R. FARR
Structural changes in human serum albumin induced by
ingestion of acetylsalicylic acid.
J. clin. Invest. 48 : 536 (1969)
74. HÄNNINEN, O., A. AITIO
Enhanced glucuronide formation in different tissues following drug administration.
Biochem. Pharmacol. 17 : 2307 (1968)
75. HOGBEN, C.A.M., L.S. SCHANKER, D.J. TOCCO, B.B. BRODIE
On the mechanism of intestinal absorption of drugs.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 125 : 275 (1958)
76. HOGBEN, C.A.M., L.S. SCHANKER, D.J. TOCCO, B.B. BRODIE
Absorption of drugs from the stomach. II. The human.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 120 : 540 (1957)

77. INSCOE, J.K., J. AXELROD
Some factors affecting glucuronide formation in vitro.
J. Pharm. & Exp. Therap. 129 : 128 (1960)
78. KAKEMI, K., T. ARITA, H. YAMASHINA, R. KONISHI
Absorption and excretion of drugs. XII. The effect of urinary pH on the excretion and the biotransformation of Salicylic acid derivatives.
Yakugakuzasshi 82 : 543 (1962)
79. KAPP, E.M., A.F. COBURN
Urinary metabolites of sodium salicylate.
J. Biol. Chem. 145 : 549 (1942)
80. KARUSH, F.
The competitive interaction of organic amines with bovine serum albumin.
J. Amer. chem. Soc. 72 : 2705 (1950)
81. KLINENBERG, J.R., F. MILLER
Effect of corticosteroids on blood salicylate concentration.
J. Amer. Med. Ass. 194 : 770 (1965)
82. KLOTZ, I.M.
Spectrophotometric investigations of the interactions of proteins with organic amines.
J. Amer. chem. Soc. 68 : 2299 (1946)
83. KUCERA, J.L., F.J. BULLOCK
The binding of salicylate to plasma protein from several animal species.
J. Pharm. Pharmacol. 21 : 293 (1969)
84. KURZ, H., G. FRIEMEL
Artspezifische Unterschiede der Bindung der Plasmaproteine.
Naunyn-Schmiedeberg. Arch. Pharm. Exp. Path. 257 : 35 (1967)

85. LEONARDS, J.R.
The influence of solubility on the rate of gastrointestinal absorption of aspirin.
Clin. Pharmacol. & Therap. 4 : 476 (1963)
86. LESTER, D., G. LOLLI, L.A. GREENBERG
The fate of acetylsalicylic acid.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 87 : 329 (1946)
87. LEVY, G., R.H. GUMTOW, J.M. RUTOWSKI
The effect of dosage form upon gastrointestinal absorption rate of salicylates.
Canad. M.A.J. 85 : 414 (1961)
88. LEVY, G., L.E. HOLLISTER
Variation in rate of salicylate elimination by humans.
Brit. med. J. II : 286 (1964)
89. LEVY, G.
Intra- and intersubject variation in drug absorption kinetics.
J. Pharm. Sci. 53 : 1446 (1964)
90. LEVY, G.
Pharmacokinetics of salicylate elimination in man.
J. Pharm. Sci. 54 : 959 (1965b)
91. LEVY, G., L.P. AMSEL
Kinetics of competitive inhibition of salicylic acid conjugation with glycine in man.
Biochem. Pharmacol. 15 : 1033 (1966)
92. LEVY, G., T. MATSUZAWA
Pharmacokinetics of salicylamide elimination in man.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 156 : 285 (1966)

93. LEVY, G., L.P. AMSEL, H.C. ELLIOTT
Kinetics of salicyluric acid elimination in man.
J. Pharm. Sci. 58 : 827 (1969)
94. LITTER, M., A.R. MORENO, L. DONIN
Salicylamide : Pharmacology, fate and clinical use.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 101 : 119 (1951)
95. LOWENTHAL, W., J.F. BORZELLECA
Drug absorption from the rectum I.
J. Pharm. Sci. 54 : 1790 (1965)
96. LOWENTHAL, W., J.F. BORZELLECA
Drug absorption from the rectum II.
J. Pharm. Sci. 55 : 151 (1966)
97. MAC CREADY,
Methyl salicylate poisoning ; report of five cases.
New Engl. J. Med. 228 : 155 (1943)
98. MACPHERSON, C.R., M.D. MILNE, B.M. EVANS
The excretion of salicylate.
Brit. J. Pharmacol. 10 : 484 (1955)
99. MANDEL, H.G., V.W. RODWELL, P.K. SMITH
A study of the metabolism of C¹⁴salicylamide in the human.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 106 : 433 (1952)
100. MANDEL, H.G., N.M. CAMBOSOS, P.K. SMITH
The presence of aspirin in human plasma after oral
administration.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 112 : 495 (1954)
101. MATTHEY, M.
Beitrag zur Leberfunktionsprüfung durch Antifebrinbelastung.
Schweiz, Med. Wschr. 94 : 41 (1964)

102. MILLS, J.N.
Human circadian rhythms.
Physiol. Rev. 46 : 128 (1966)
103. MINDEN, P., R.S. FARR
Human antibodies against acetylsalicylic acid
altered human serum albumin.
Arthr. and Rheum. 10 : 299 (1967)
104. MORAN, C.J., W.H.C. WALKER
The binding of salicylate to serum.
Biochem. Pharmacol. 17 : 153 (1967)
105. MORGAN, A.M., E.B. TRUITT
Evaluation of acetylsalicylic acid esterase
in aspirin metabolism.
J. Pharm. Sci. 54 : 1640 (1965)
106. MOUNTER, L.A., V.P. WHITTAKER
The hydrolysis of esters of phenol choline-
esterases and other esterases.
Biochem. J. 54 : 551 (1953)
107. NELSON, E.,
Kinetics of drug absorption, distribution,
metabolism and excretion.
J. Pharm. Sci. 50 : 181 (1961)
108. NELSON, E., G. LEVY
Relationship of plasma salicylate concentration
to urinary salicylate excretion rate.
Nature 197 : 1269 (1963)
109. NELSON, E., M. HANANO, G. LEVY
Comparative pharmacokinetics of salicylate
elimination in man and in rats.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 153 : 159 (1966)

110. NEUWALD, F., F. KUNZE
Vergleichende Untersuchungen über die Abgabe von
Salicylaten aus Suppositoriengrundmassen in vitro
und in vivo.
Arzneimittelforsch. 14 : 1162 (1964)
111. PINCKARD, R.N., D. HAWKINS, R.S. FARR
In vitro acetylation of plasma proteins, enzymes
and DNA by aspirin.
Nature 219 : 68 (1968)
112. PIPER, P.J., S.J. SAID, J.R. VANE
Effects on smooth muscle preparation of un-
identified vasoactive peptides from intestine
and lung.
Nature 225 : 1144 (1970)
113. PIPER, P.J., J.R. VANE, J.H. WYLLIE
Inactivation of prostaglandins by the lungs.
Nature 225 : 600 (1970)
114. QUASTEL, J.H.
Salicylates, tissue metabolism and transport
processes.
Appl. Therap. 5 : 252 (1963)
115. QUICK, A.J.
The conjugation of benzoic acid in man.
J. Biol. Chem. 101 : 475 (1931)
116. QUICK, A.J.
The relationship between chemical structure and
physiological response. IV. Conjugation of sali-
cyclic acid with glycine and its action on uric
acid excretion.
J. Biol. Chem. 101 : 475 (1960)

117. QUICK, A.J.
Salicylates and bleeding : The aspirin tolerance test.
Amer. J. Med. Sci. 252 : 265 (1966)
118. REINBERG, A., ZIW. ZAGULA-MALLY, J. GHATA, F. HALBERG
Circadian rhythm in duration of salicylate excretion
referred to phase of excretory rhythms and routine.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 124 : 826 (1967)
119. REYNOLDS, R.C., L.E. CLUFF
Interaction of serum and sodium salicylate: changes
during acute infection and its influence on pharmacological activity.
Bull. Johns Hopk. Hosp. 107 : 278 (1960)
120. ROBBINS, P.W., W. LIPMANN
Isolation and identification of active sulfate.
J. Biol. Chem. 229 : 837 (1957)
121. ROBBINS, P.W., F. LIPMANN
Separation of the two enzymatic phases in active sulfate
synthesis.
J. Biol. Chem. 233 : 681 (1958)
122. ROWLAND, M.J., A.J. BECKETT
Rhythmic urinary excretion of amphetamine in man.
Nature 204 : 1203 (1964)
123. ROWLAND, M.J.
The clinical pharmacology of salicylates.
Calif. Med. 110 : 410 (1969)
124. SABRY, Z.I., S.B. SHADAEVIAN, J.W. COWAN, J.A. CAMPBELL
Relationship of dietary intake of sulfur aminoacids to
urinary excretion of inorganic sulphate in man.
Nature 206 : 931 (1965)

125. SAMTER, M., R.F. BEERS
Concerning the nature of intolerance to aspirin.
J. Allergy 40 : 281 (1967)

126. SAMTER, M., R.F. BEERS
Intolerance to aspirin. Clinical studies and consideration of its pathogenesis.
Ann. intern. Med. 68 : 975

127. SCHACHTER, D.
The chemical estimation of acyl glucuronides and its application to studies on the metabolism of benzoate and salicylate in man.
J. clin. Invest. 36 : 297 (1957)

128. SCHACHTER, D., J.G. MANIS
Salicylate and salicyl conjugates : fluorimetric estimation, biosynthesis and renal excretion in man.
J. clin. Invest. 37 : 800 (1958)

129. SCHANKER, L.S.
Absorption of drugs from the stomach. II. The human.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 120 : 540 (1957)

130. SCHWARTZ, M.A., G.L. AMIDON
Reaction of aspirin amines. Potential mechanism for aspirin allergy.
J. Pharm. Sci. 55 : 1464 (1966)

131. SCOTT, J.T., A.M. DENMAN, J. DORLING
Renal irritation caused by salicylates.
Lancet I : 344 (1963)

132. SEEBERG, V.P., D. HANSEN, B. WHITNEY
Absorption and distribution of salicylamide.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 101 : 275 (1954)

133. SIURALA, M., O. MUSTALA, J. JUSSILA
Absorption of acetylsalicylic acid by normal and an
atrophic gastric mucosa.
Scand. J. Gastroent. 4 : 269 (1969)
134. SMITH, E.E.B., G.T. MILLS
Uridine nucleotide compounds of liver.
Biochim. Biophys. Acta 13 : 386 (1954)
135. SMITH, H.W.
The Kidney. Structure and function in health
and disease.
New York, Oxford University Press, Inc., 1951
136. SMITH, L.H., K.L. MELMON, M. ROWLAND, H. MORELLI
The Clinical Pharmacology of Salicylates.
Calif. Med. 110 : 410 (1969)
137. SMITH, M.J.H.
Some recent advances in the pharmacology of
salicylates.
J. Pharm. & Pharmacol. 5 : 81 (1953)
138. SMITH, M.J.H.
Salicylates and metabolism.
J. Pharm. & Pharmacol. 11 : 705 (1959)
139. SMITH, M.J.H., P.K. SMITH
The Salicylates. S. 235
New York, Interscience, 1966
140. SMITH, P.K., H.L. GLEASON, C.G. STOLL, S. OGORZALEK
Studies on the pharmacology of salicylates.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 87 : 237 (1946)

141. SMITH, P.K.
The pharmacology of salicylates and related compounds.
Ann. New York Acad. Sc. 86 : 38 (1960)
142. SÖRBO, B.
Sulphur metabolism and its clinical chemistry :
sulphonic acids and inorganic sulphur compounds.
Scand. clin. Lab. Invest. 17 : 21 (1966)
143. STAUDACHER, H.L., H. MÜLLER
Bestimmungen des Salicylatspiegels im Plasma nach
Verabreichung von Acetylsalicylsäure und Ascorbinsäure.
Arzneimittelforsch. 19 : 1612 (1969)
144. STURMAN, J.A., M.J.H. SMITH
The binding of salicylate to plasma proteins in
different species.
J. Pharm. & Pharmacol. 19 : 621 (1967)
145. TAKETA, K.
Urinary recovery of salicylamide as its glucuronide
in liver disease.
Acta med. Okayama 16 : 129 (1962)
146. TRINDER, P.
Rapid determination of salicylates in biological fluids.
Biochem. J. 57 : 301 (1954)
147. VANE, J.R.
Inactivation of prostaglandins by the lungs.
Nature 225 : 600 (1970)
148. VANE, J.R., S. FERREIRA, S. MONCADA
Zit. nach "Der Spiegel" 30 : 104 (1971)

149. WEINER, L.M., M. ROSENBLATT, H.A. HOWESS
The detection of humoral antibodies directed against
salicylates in hypersensitive states.
J. Immunol. 90 : 788 (1963)
150. WEISS, H.J., L.M. ALEDORT, S. KOCHWA
The effect of salicylates on the hemostatic
properties of platelets in man.
J. clin. Invest. 47 : 2169 (1968)
151. WEISS, H.J., C.A. DANESE, C.D. VOLETI
Prevention of experimentally induced arterial thrombosis
by aspirin.
Fed. Proc. 29 : 381 (1970)
152. WILLIAMS, R.T.
The influence of dose and o-, m- and p-substitution
of sulfate detoxication of phenol in the rabbit.
Biochem. J. 32 : 878 (1958)
153. WILLIAMS, R.T.
Detoxication mechanism
Chapman and Hall, London, 1959
154. WOOD, P.H., E.A. HARVEY-SMITH, A. DIXON
Salicylates and gastrointestinal bleeding.
Brit. med. J. 1 : 669 (1962)
155. WOODBURY, D.M.
in : Analgesics and Antipyretics, S. 312-330
The pharmacological Basis of Therapeutics
Ed. GOODMAN, GILMAN, The Macmillan Company, New York 1965
156. YAFFE, S.J., G. LEVY, T. MATSUZAWA, T. BALIAH
Enhancement of glucuronide conjugating capacity in a
hyperbilirubinemic infant due to apparent enzyme
induction by phenobarbital.
New Engl. J. Med. 275 : 1461 (1966)

157. YURCHAK, A.M., K. WICHER, C.E. ARBESMAN
Immunological studies on aspirin.
J. Allergy 46 : 245 (1970)
158. ROUECHE, B.
The incurable wound and further narratives of
medical detection.
Little, Brown and Co., Boston, 1957, S. 89-116

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Weinig, Vorstand des Instituts für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg, danke ich sehr herzlich für die freundliche Unterstützung durch Überlassung eines Arbeitsplatzes, für Ratschläge bei der Abfassung der Arbeit und die Übernahme des Koreferats.

Bei Frau Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher - von Mallinckrodt bedanke ich mich besonders für die Überlassung des Themas und für ihre stets in übergroßem Maße gewährte freundliche Hilfe.

Lebenslauf

Am 6. Juni 1944 wurde ich, Horst-Dieter Reder, als Sohn des Holzbildhauermeisters Aloys Reder und seiner Ehefrau Margarete Reder, geb. Kratzer, in Burgellern bei Bamberg geboren. Meine Kindheit verbrachte ich in Bamberg.

Im Herbst 1950 trat ich dort in die Volksschule ein, wechselte 1955 in die Oberrealschule Bamberg über und legte in der gleichen Schule im Juli 1964 die Reifeprüfung ab. Im Herbst des Jahres 1966 immatrikulierte ich mich nach zweijährigem Bundeswehraufenthalt an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, um Medizin zu studieren. Dort legte ich im Sommer 1967 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Frühjahr 1969 die ärztliche Vorprüfung ab. Seit dem Sommer 1969 studiere ich im Nebenfach Psychologie. Im Juli 1972 schloß ich mein Studium mit der ärztlichen Prüfung ab.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990